



Vera Batista Moutinho

Licenciatura em Ciências da Engenharia Biomédica

Conetividade de baixa frequência no cérebro humano associada ao movimento voluntário

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Biomédica

Orientador: Alexandre Andrade, Professor Auxiliar,
Instituto de Biofísica e Engenharia Biomédica,
Faculdade de Ciências de Lisboa

Co-orientador: Ricardo Vigário, Professor Auxiliar Convidado,
Faculdade de Ciências e Tecnologia da
Universidade Nova de Lisboa



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Setembro, 2017

Conetividade de baixa frequência no cérebro humano associada ao movimento voluntário

Copyright © Vera Batista Moutinho, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade NOVA de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade NOVA de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

AGRADECIMENTOS

Com o terminar desta tese de mestrado, chega ao fim uma etapa repleta não só de inúmeros momentos felizes, mas também de superação de muitos obstáculos. Aproveito assim esta oportunidade para agradecer a todas as pessoas que, de alguma maneira, contribuíram para o meu desenvolvimento pessoal e profissional durante estes 5 anos, tornando este percurso académico tão especial para mim.

Ao meu orientador, Professor Alexandre Andrade, por toda a simpatia, paciência, motivação e disponibilidade demonstradas desde o primeiro dia, assim como a excelente orientação dada ao longo de todo este projeto.

Em particular, à Universidade Técnica de Graz pela disponibilidade dos dados necessários para a realização desta tese; ao Johann Kruschwitz pelo esclarecimento de todas as questões relacionadas com o programa utilizado; a todos os docentes da Faculdade de Ciências e Tecnologias pela transmissão das bases científicas necessárias para a concretização do meu curso; e a todos os professores e colegas que tive oportunidade de conhecer no Instituto de Biofísica e Engenharia Biomédica, durante o pouco tempo em que estive lá. Um obrigada especial à Daniela Godinho, por todas as dúvidas esclarecidas ao longo deste trabalho, ao João Calisto, por me ter introduzido o programa e poupado tempo na pesquisa sobre o mesmo, e ao Duarte Tavares, por toda a disponibilidade e ajuda na parte de estatística.

Aos meus pais, Alfredo e Fátima, um OBRIGADA do fundo do meu coração por toda a força, paciência e amor demonstrados em toda a minha vida, e por serem um exemplo para mim. Sem vocês eu não teria chegado até aqui!

À melhor amiga que alguém poderia ter, Jéssica Soeiro, um enorme obrigada por estes 17 anos de verdadeira amizade, e em particular, por toda a motivação, carinho, compreensão e apoio que só tu sabes dar.

Às três pessoas mais importantes e especiais que a faculdade me apresentou, Filipa, Sara e Sofia, sem vocês estes 5 anos não teriam sido tão espetaculares... obrigada *FUN-tastic Four*!

À Mariana Coelho, Jandira Andrade, David Dias e Shiv Bhudia por serem umas pessoas extraordinárias e uns amigos excepcionais.

Por fim, e de um modo geral, gostaria de agradecer a todos os restantes amigos e familiares que fazem parte da minha vida, e que contribuíram para o sucesso desta etapa tão importante!

*"The future belongs to those who believe
in the beauty of their dreams."*

Eleanor Roosevelt

RESUMO

A capacidade de realizar um movimento voluntário é considerada fundamental para a natureza humana. Contudo, e apesar da sua importância, a compreensão dos mecanismos neuronais subjacentes à sua preparação ainda não é clara.

Neste estudo, foram examinados os sinais de fMRI, do inglês: *functional Magnetic Resonance Imaging*, de 25 sujeitos saudáveis, através de uma análise localizada no tempo da conectividade funcional, onde se calcularam 3 componentes da coerência de Wavelet: magnitude, fase e *phase-locking*, para 32 regiões cerebrais. Cada sujeito realizou 3 tarefas: repouso, movimento (pressão de um botão) em livre-arbítrio e induzido por um estímulo visual, sendo assim possível comparar as redes neuronais envolvidas em cada uma. Para a obtenção destas comparações, e das respectivas medidas topológicas de grafos, foi utilizado o *software* GraphVar. Um último objetivo consistiu no estudo da relação entre os sinais de fMRI e do intervalo entre picos R do sinal cardíaco, adquirido simultaneamente. Dado o forte papel das oscilações lentas (<0.1 Hz) na iniciação de movimentos voluntários, todas as metodologias foram aplicadas segundo 3 bandas de frequência diferentes: 0.01-0.027 Hz, 0.027-0.073 Hz e 0.07-0.13 Hz.

Os resultados obtidos nas comparações entre tarefas revelaram uma grande semelhança entre a medida de magnitude e *phase-locking*, sugerindo que quando dois sinais estão bastante síncronos numa dada janela temporal, ou seja, houve pouca variação da fase, também apresentam uma elevada magnitude da coerência. De todas as regiões cujas conexões eram mais significativas em movimentos voluntários, houve grande destaque do tálamo e da parte opercular do giro frontal inferior ipsilaterais. Relativamente à medida de fase, foi observado um forte padrão de alternância entre inibição e excitação em ambos os hemisférios de cada região. Na relação entre os sinais de fMRI e cardíaco, confirmou-se a ativação de regiões envolvidas no controlo da função cardiovascular, como é o caso da insula. De um modo geral, os resultados demonstraram a utilidade destas medidas de conectividade funcional para a elucidação do papel das oscilações lentas na preparação e execução de movimentos voluntários.

Palavras-chave: Movimento voluntário, Oscilações lentas, fMRI, Coerência de Wavelet, Circuitos neuronais, Teoria de grafos, Sinal cardíaco.

ABSTRACT

The ability to perform a voluntary movement is considered crucial to human nature. However, despite its importance, the understanding of the neuronal mechanisms underlying its preparation is still unclear.

In this study, the functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) signals of 25 healthy subjects were examined through a time-domain analysis of functional connectivity, where 3 components of Wavelet coherence were calculated: magnitude, phase and phase-locking, for 32 brain regions. Each subject performed 3 tasks: rest, movement (button press) in free will and induced by a visual stimulus, enabling the comparison of the neural networks involved in each one. To obtain these comparisons, and their topological measurements of graphs, the GraphVar software was used. A final goal was to study the coupling between the oscillations of the fMRI and heart rate beat-to-beat interval (acquired simultaneously) signals. Given the strong role of slow oscillations ($<0.1\text{Hz}$) in the initiation of voluntary movements, all methodologies were applied according to 3 frequency bands: 0.01-0.027Hz; 0.027-0.073Hz; 0.07-0.13Hz.

The results obtained in the comparisons between tasks revealed a great similarity between the measure of magnitude and phase-locking, suggesting that when two signals are very synchronous in a given time window, that is, there was little variation of phase, they also present a high magnitude of coherence. Of all the regions whose connections were more significant in voluntary movements, there was great prominence of the right partitions of thalamus and pars opercularis of the inferior frontal gyrus. Regarding the phase measurement, a strong pattern of alternation between inhibition and excitation was observed in both hemispheres of each region. In the relationship between fMRI and cardiac signals, the activation of regions involved in the control of cardiovascular function was confirmed, as is the case of insula. Globally, the results demonstrated the usefulness of these measures of functional connectivity to elucidate the role of slow oscillations in the preparation and execution of voluntary movements.

Keywords: Voluntary movement, Slow oscillations, fMRI, Wavelet coherence, Neural circuits, Graph theory, Cardiac signal.

ÍNDICE

Lista de Figuras	xv
Lista de Tabelas	xxi
Siglas	xxiii
1 Introdução	1
1.1 Objetivos	2
1.2 Resumo dos capítulos	3
2 Conteúdos Teóricos	5
2.1 Movimento voluntário	5
2.1.1 Redes neuronais ativas nos movimentos: livres e impulsionados por estímulo	9
2.1.1.1 Circuitos neuronais obtidos em teses anteriores	11
2.2 Imagem por Ressonância Magnética	12
2.2.1 Imagem por Ressonância Magnética Funcional	15
2.3 Conetividade Cerebral	19
2.3.1 Medidas de conectividade funcional	20
2.3.2 Caracterização e medidas topológicas de redes de conectividade cerebral	22
2.3.2.1 Resultados da análise de medidas de grafos obtidos em teses anteriores	24
2.3.3 Redes de repouso e o papel das oscilações lentas	25
3 Materiais e Métodos	29
3.1 Participantes e Protocolo Experimental	29
3.2 Aquisição e Pré-processamento dos dados	30
3.3 Metodologia 1: Análise da coerência de Wavelet	31
3.4 Metodologia 2: Extração dos pontos localizados no tempo	34
3.5 Aplicação da <i>toolbox</i> GraphVar	36
3.5.1 Resumo geral e descrição das funcionalidades	36
3.5.1.1 <i>Raw matrix</i>	38

3.5.1.2	Construção e cálculo da rede	38
3.5.1.3	Análise Estatística: GLM	39
3.5.2	Aplicação da análise pretendida	40
3.6	Metodologia 3: Coerência entre sinal BOLD e intervalo RR	41
4	Resultados e Discussão	43
4.1	Exploração dos resultados no GraphVar	43
4.2	Comparação entre tarefas	44
4.2.1	Análise das matrizes de conectividade	44
4.2.1.1	Resultados de Magnitude	45
4.2.1.2	Resultados de <i>Phase-Locking</i>	49
4.2.1.3	Discussão dos resultados de Magnitude e <i>Phase-Locking</i> .	54
4.2.1.4	Resultados de Fase	58
4.2.1.5	Discussão dos resultados da Fase	63
4.2.2	Análise das medidas de grafos	66
4.2.2.1	Grau do nó	67
4.2.2.2	Eficiência Global	71
4.3	Comparação entre BOLD e intervalo RR	72
4.3.1	Resultados de Magnitude	73
4.3.2	Resultados de <i>Phase-Locking</i>	73
4.3.3	Resultados de Fase	75
4.3.4	Discussão dos resultados	76
5	Conclusão e Trabalho Futuro	79
5.1	Conclusão	79
5.2	Trabalho Futuro	80
	Bibliografia	83
I	Resultados do Grau do Nó - Magnitude	95
II	Resultados do Grau do Nó - <i>Phase-Locking</i>	99
III	Resultados do Grau do Nó - Fase	103

LISTA DE FIGURAS

- 2.1 Ilustração da experiência de Libet et al.. Os participantes foram solicitados a pressionar um botão sempre que sentissem vontade de o fazer, e ainda, pela observação de um relógio, cujo ponteiro rodava a uma velocidade de 2.5 s por rotação, tentassem memorizar a posição deste no momento em que sentiram pela primeira vez a intenção de agir. Este preciso momento da tomada de consciência foi designado por *w-time*, e era relatado depois do movimento ter ocorrido. Os resultados obtidos mostraram que em média, o *w-time* foi de 200 ms, aproximadamente. Ao comparar este valor com o começo do RP (entre 1-2 s antes do movimento), concluiu-se que os movimentos voluntários eram iniciados por processos mentais inconscientes, muito antes de surgir a vontade de agir. Adaptado de [2]. 7
- 2.2 Redes neuronais do movimento voluntário. A primeira rede (imagem da esquerda) começa nos gânglios basais e córtex pré-frontal, que em seguida transmitem informação para a pre-SMA, e desta para o M1, por meio da SMA. Na segunda rede (imagem da direita), a informação vinda do S1 é transmitida para representações de nível intermediário no córtex parietal, e daí, para a parte lateral do córtex pré-motor, que se projeta para M1. Adaptado de [2]. . 10
- 2.3 Na imagem da esquerda é possível observar a conversão da magnetização longitudinal, M_z (a vermelho), para a magnetização transversal, M_{xy} (a roxo), após a aplicação do pulso RF de 90°, na frequência de Larmor. Posteriormente, a M_{xy} ficará a precessar no plano xy, induzindo um sinal na bobina recetora (imagem central). Assim que o pulso RF é desligado, esse sinal, também designado por FID (imagem da direita), que possui variações positivas e negativas à medida que oscila na frequência de Larmor, vai decaindo ao longo do tempo devido à perda de coerência de fase. Adaptado de [29]. 13
- 2.4 Ilustração do Relaxamento Longitudinal. Ao ser aplicado um pulso RF de 90°, a magnetização longitudinal (M_z) passa do seu valor máximo de equilíbrio para $M_z = 0$. Em seguida, a recuperação de M_z para o equilíbrio ocorre exponencialmente, através da constante de relaxação T1. Passado um intervalo de tempo igual a T1, 63 % de M_z é recuperado. Adaptado de [29]. 14

2.5	(A) Ilustração do Relaxamento Transversal. A perda de coerência de fase da magnetização transversal M_{xy} dá-se de forma exponencial com uma constante de decaimento igual a T2, que corresponde ao tempo necessário até M_{xy} atingir 37 % da sua magnetização inicial (valor máximo). (B) Decaimento de T2 e T2*, ao longo do tempo. O decaimento T2* dá-se mais rapidamente que o T2, devido às inhomogeneidades do campo, que provocam uma perda da coerência de fase mais rápida. Adaptado de [29].	14
2.6	Esboço de um capilar no tecido cerebral durante o repouso (em cima) e uma ativação (em baixo). Os círculos a vermelho representam a HbO ₂ , e os a azul, a dHb. É possível observar também que o sinal de MRI é reduzido no lado do sangue venoso devido à presença de dHb (imagem com tom mais escuro). No entanto, assim que ocorre um aumento da concentração de HbO ₂ , pela subida do fluxo sanguíneo na região ativada, dá-se um aumento do sinal BOLD, tornando a imagem mais clara. Adaptado de [36].	16
2.7	Ilustração da resposta BOLD a um estímulo único, onde se pode observar o <i>initial dip</i> , que resulta da extração de oxigénio antes do aumento do fluxo do sangue oxigenado, e o <i>post stimulus undershoot</i> , em que o fluxo sanguíneo decresce mais rapidamente que o volume sanguíneo, permitindo que uma grande concentração de dHb permaneça nas regiões cerebrais ativadas anteriormente. Adaptado de [41].	17
2.8	Representação gráfica da resposta BOLD modelada (imagem da direita) pela operação matemática de convolução entre a função de apresentação dos estímulos (imagem da esquerda) e a HRF canónica (imagem central). Adaptado de [43]	17
2.9	Representação 3D dos 3 tipos de conectividade cerebral (em cima) e respetivas matrizes de conectividade (em baixo), onde as linhas e colunas irão representar as regiões cerebrais, e as entradas da matriz, as conexões. (A) Conectividade Anatómica. (B) Conectividade Funcional. (C) Conectividade Efetiva. Adaptado de [50], [53].	20
2.10	Representação da conectividade cerebral como um grafo. Os nós dizem respeito às regiões cerebrais, e as conexões às ligações entre duas regiões. Adaptado de [51].	23
2.11	Ilustração de algumas medidas topológicas de grafos. As medidas de integração são baseadas em comprimentos do caminho curtos (a verde), enquanto que as medidas de segregação baseiam-se na maior parte das vezes em triângulos (a azul) mas também incluem a decomposição em módulos (forma oval). Medidas de centralidade podem ser baseadas no grau do nó (a vermelho) ou no tamanho e número dos caminhos mais curtos entre nós. Os <i>hub</i> (a preto) assentam muitas vezes num alto número de caminhos curtos. Padrões de conectividade local são quantificados por motivos de rede (a amarelo). Adaptado de [50].	24

2.12	Exemplificação das 8 redes de repouso: motor primária, visual primária e extra-estriado, insular-temporal/ACC, parietal-frontal (esquerdo e direito), DMN e frontal, que foram identificadas nos estudos - (a) [69], (b) [70], (c) [74], (d) [71], (e) [75] e (f) [76]. Adaptado de [51].	26
3.1	Ilustração da interface desenvolvida para análise da coerência de Wavelet. A interação com esta ferramenta, começa pela seleção dos 2 sinais a serem utilizados, onde se terá de predefinir: as regiões cerebrais (de entre as 90 do atlas AAL), a tarefa (de entre REST1, REST2, SELF e VISUAL), o ensaio (A ou B) e o sujeito (1 a 25) de interesse. Ao pressionar o botão " <i>Wavelet Coherence</i> ", serão apresentadas as séries temporais BOLD de cada sinal (em cima), assim como o respetivo mapa de coerência (em baixo, imagem da esquerda) e transformadas contínuas de Wavelet (em baixo, 2 imagens mais à direita).	32
3.2	Procedimentos realizados para a obtenção dos pontos localizados no tempo, com base no critério implementado. Os resultados presentes nesta figura correspondem ao sujeito 21, ensaio A e tarefa SELF.	35
3.3	Ilustração da interface desenvolvida para a obtenção das matrizes de coerência de Wavelet localizadas no tempo. O utilizador tem a possibilidade de escolher qual o critério de interesse, os sujeitos, ensaio e regiões cerebrais em que se pretende aplicar a análise. Juntamente a isso, terá de selecionar qual a banda de frequência e a medida da coerência de Wavelet que deseja. A opção " <i>default</i> " do critério de convolução, considera o percentil de 30% que foi utilizado para obter os resultados nesta tese.	37
3.4	Ilustração da interface do GraphVar.	37
3.5	Esquemático do fluxo de trabalho do GraphVar. As duas vias de análise possíveis são: a construção de redes de grafos para posterior obtenção das respetivas medidas topológicas; e a análise estatística direta das matrizes de conectividade. Adaptado de [103].	38
3.6	Exemplificação do sinal BOLD (a); sinal do intervalo RR (b); e da coerência de Wavelet entre ambos os sinais (c). Estes resultados são referentes à região M1 do HE, tarefa SELF, banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz, ensaio A e sujeito 1.	42
4.1	Ilustração da interface de exploração dos resultados do GraphVar. Na parte de cima da interface encontram-se 2 painéis, onde é possível escolher as variáveis, limites e regiões cerebrais que se pretendem visualizar, e ainda, as correções e nível de significância a aplicar. No painel de baixo é possível observar os resultados pretendidos (de acordo com a dimensionalidade das medidas de grafos) e respetiva informação, que irá aparecer onde o <i>mouse</i> estiver posicionado: 1ª linha – região cerebral do eixo dos yy; 2ª linha – região cerebral do eixo dos xx; 3ª linha – diferença entre as médias dos grupos (<i>d</i>); 4ª linha – <i>t-Value</i> ; 5ª linha – <i>p-Value</i>	44

4.2	Resultados das matrizes de magnitude referentes à banda de frequência de 0.01 a 0.027 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.	47
4.3	Resultados das matrizes de magnitude referentes à banda de frequência de 0.027 a 0.073 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.	48
4.4	Resultados das matrizes de magnitude referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.	50
4.5	Resultados das matrizes de <i>phase-locking</i> referentes à banda de frequência de 0.01 a 0.027 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.	52
4.6	Resultados das matrizes de <i>phase-locking</i> referentes à banda de frequência de 0.027 a 0.073 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.	53
4.7	Resultados das matrizes de <i>phase-locking</i> referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.	55
4.8	Resultados das matrizes da fase referentes à banda de frequência de 0.01 a 0.027 Hz. As imagens dos lados esquerdos e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.	60
4.9	Resultados das matrizes da fase referentes à banda de frequência de 0.027 a 0.073 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.	61
4.10	Resultados das matrizes da fase considerando a comparação entre "Movimento" e "Não Movimento" do SELF, para os limites de 5% (em cima) e 10% (em baixo). Banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.	63

4.11	Resultados das matrizes da fase referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.	64
4.12	Matrizes de fase referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens do lado esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo. . . .	69
4.13	Resultados de magnitude referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz, considerando a medida de eficiência global. A imagem de cima diz respeito ao ensaio A, e a de baixo ao ensaio B.	71
4.14	Resultados de fase referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz, considerando a medida de eficiência global. A imagem de cima diz respeito ao ensaio A, e a de baixo ao ensaio B.	72
4.15	Resultados de <i>phase-locking</i> referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz, considerando a medida de eficiência global. A imagem de cima diz respeito ao ensaio A, e a de baixo ao ensaio B.	73
4.16	Resultados das matrizes obtidas na análise BOLD (matrizes quadradas, já ilustrada na secção 4.2.1.4) e o respetivo resultado das diferenças de fase da coerência entre o sinal BOLD e o intervalo RR com o teste de Wilcoxon, que foi sempre mais significativo nas tarefas de repouso em comparação com o SELF. No lado direito de cada uma das quatro imagens, observa-se a escala de cores relativa aos <i>p-values</i> obtidos na análise da interação entre os sinais BOLD e cardíaco. Banda de frequência utilizada: 0.07-0.13 Hz.	77
I.1	Resultados das matrizes de magnitude referentes à banda de frequência de 0.01 a 0.027 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens do lado esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo.	96
I.2	Matrizes de magnitude referentes à banda de frequência de 0.027 a 0.073 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens do lado esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo. .	97
I.3	Matrizes de magnitude referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens do lado esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo. .	98

II.1	Resultados das matrizes de <i>phase-locking</i> referentes à banda de frequência de 0.01 a 0.027 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo.	100
II.2	Resultados das matrizes de <i>phase-locking</i> referentes à banda de frequência de 0.027 a 0.073 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo.	101
II.3	Resultados das matrizes de <i>phase-locking</i> referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo.	102
III.1	Resultados das matrizes de fase referentes à banda de frequência de 0.01 a 0.027 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo.	103
III.2	Resultados das matrizes de fase referentes à banda de frequência de 0.027 a 0.073 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo.	104

LISTA DE TABELAS

3.1	Lista das 32 regiões cerebrais do hemisfério direito (HD) e hemisfério esquerdo (HE), que serão utilizadas nesta tese.	33
4.1	Resultados relativos à Magnitude, baseados na coerência entre o sinal BOLD e intervalo de batimentos cardíacos da frequência cardíaca, para ambos os ensaios e 3 bandas de frequência	74
4.2	Resultados relativos ao <i>Phase-locking</i> , baseados na coerência entre o sinal BOLD e intervalo de batimentos cardíacos da frequência cardíaca, para ambos os ensaios e 3 bandas de frequência	75
4.3	Resultados relativos à fase, baseados na coerência entre o sinal BOLD e intervalo de batimentos cardíacos da frequência cardíaca, para ambos os ensaios e 3 bandas de frequência	76

AAL *Automated Anatomical Labeling.*

ACC *Anterior Cingulate Cortex.*

AIC *Anterior Insular Cortex.*

aMCC *Anterior Mid-Cingulate Cortex.*

ASL *Arterial Spin Labeling.*

BCT *Brain Connectivity Toolbox.*

BOLD *Blood Oxygenation Level Dependent.*

DCM *Dynamic Causal Modeling.*

dHb *desoxi-Hemoglobina.*

DMN *Default Mode Network.*

DTI *Diffusion Tensor Imaging.*

ECG *Eletrocardiograma.*

EEG *Eletroencefalografia.*

EPI *Echo-planar Imaging.*

FDR *False Discovery Rate.*

FID *Free Induction Decay.*

fMRI *functional Magnetic Resonance Imaging.*

GAT *Graph Analysis Toolbox.*

GLM *General Linear Model.*

Hb *Hemoglobina.*

HRF *Haemodynamic Response Function.*

IBEB Instituto de Biofísica e Engenharia Biomédica.

LRP *Lateralized Readiness Potential.*

M1 Córtex Motor Primário.

MEG Magnetoencefalografia.

MRI *Magnetic Resonance Imaging.*

NBS *Network Based Statistic Toolbox.*

PET *Positron Emission Tomography.*

pre-SMA *Pre-Supplementary Motor Area .*

RF Radiofrequência.

RM Ressonância Magnética.

RMN Ressonância Magnética Nuclear.

RP *Readiness Potential.*

S1 Córtex Sensorial Primário.

SCPSH *Slow Cortical Potential Sampling Hypothesis.*

SICE *Sparse Inverse Covariance Estimation.*

SMA *Supplementary Motor Area.*

SNC Sistema Nervoso Central.

SPM *Statistical Parametric Mapping.*

TC Tomografia Computorizada.

TMS *Transcranial Magnetic Stimulation.*

INTRODUÇÃO

Um dos problemas clássicos que mais tem suscitado diversos debates por neurocientistas em todo o mundo relaciona-se com a iniciação de movimentos voluntários por livre-arbítrio. Sabe-se que o controlo voluntário está na origem da noção que temos de nós mesmos, e que as incapacidades de o detetar ou expressar são sintomas de várias doenças psiquiátricas e neurológicas, como a esquizofrenia e a síndrome do membro fantasma [1], [2]. No entanto, e apesar da sua importância, a compreensão dos mecanismos neuronais que dão origem a este tipo de movimentos ainda não é totalmente clara, o que se deve, em grande parte, à dificuldade do seu estudo a nível experimental, por serem independentes de um estímulo externo.

Com o enorme desenvolvimento de técnicas não-invasivas nas últimas décadas, ou não fosse este um dos empreendimentos científicos mais importantes em Medicina e Engenharia Biomédica (tal como se pode verificar pelo grau de prioridade, e grande financiamento que lhe têm sido concedidos na União Europeia e EUA [3]), tornou-se possível identificar os circuitos neuronais envolvidos na preparação destes movimentos, o que tem levado a um maior entendimento dos respetivos processos cerebrais. De entre as regiões cerebrais que mais se destacam na bibliografia existente pela sua envolvimento na iniciação de ações voluntárias, estão a Área Motora Suplementar, o Córtex Motor Primário, a Insula e o Cíngulo Anterior [4].

A imagem por Ressonância Magnética funcional, do inglês, *functional Magnetic Resonance Imaging* (fMRI), que está entre uma das modalidades mais utilizadas pela comunidade científica, tem vindo a dar um forte contributo na identificação destes circuitos cerebrais, através da utilização de um método, denominado *Blood Oxygenation Level Dependent* (BOLD). Este método possibilita o mapeamento funcional da atividade neuronal pelo estudo de alterações no nível de oxigenação do sangue, e tem a capacidade de refletir a forma como diferentes regiões do cérebro comunicam eficientemente entre si, na

realização de certas tarefas, ou mesmo durante o repouso [5]. Surge assim o conceito “conetividade”, que caracteriza esta abordagem do cérebro como um sistema de elementos interligados, ou seja, de regiões cerebrais, que interagem dinamicamente. Desta forma, o seu estudo veio facilitar a clarificação de processos cerebrais de nível mais elevado, como a memória, a cognição e o raciocínio, e ainda, de diversas fisiopatologias cerebrais, como a doença de Parkinson, Alzheimer, entre outras [6].

Diversos estudos de fMRI no estado de repouso têm demonstrado que as oscilações que se observam no sinal BOLD apresentam frequências dominantes entre 0.01 e 0.1 Hz. Contudo, estas oscilações de baixa frequência também foram detetadas noutros sinais fisiológicos como na pressão sanguínea (ondas Mayer), frequência cardíaca e sinal de Electroencefalografia (EEG), sendo que a sua origem, entre neuronal e vascular, tem sido alvo de grande debate. Em particular, foram encontradas evidências que demonstraram que a intenção de realizar movimentos voluntários em livre-arbítrio não surge da atividade cerebral sozinha, uma vez que é influenciada por oscilações cardiovasculares nesta banda de frequência [7].

1.1 Objetivos

A presente tese foi realizada maioritariamente no Instituto de Biofísica e Engenharia Biomédica (IBEB), e teve como principal objetivo o estudo da conetividade funcional de baixa frequência, durante a execução de uma tarefa de movimento voluntário, onde se pretendia obter comparações entre os circuitos neuronais ativos nesta tarefa, com outras associadas ao repouso e movimento impulsionado por um estímulo. Para tal, analisaram-se os dados de fMRI de 25 indivíduos saudáveis, que foram disponibilizados através de uma colaboração com a Universidade Técnica de Graz, na Áustria. Cada indivíduo foi sujeito a dois ensaios, A e B, e três tarefas distintas: repouso, movimento livre (em que teria de pressionar um botão sempre que sentissem vontade de o fazer) e movimento (pressão do mesmo botão) solicitado por um estímulo visual periódico.

A realização desta tese enquadra-se no seguimento de teses anteriores, cujos objetivos eram o mesmo que esta, distinguindo-se na medida da coerência da transformada de Wavelet aplicada, já que numa foi utilizada a magnitude, e noutra o *phase-locking*. O estudo presente diferencia-se dos precedentes por fazer uma análise localizada no tempo, em vez de usar toda a série temporal BOLD, e ainda, pelo cálculo das diferenças de fase da coerência de Wavelet.

Primeiramente, foi necessário calcular os valores de coerência da transformada de Wavelet localizados no tempo, para diferentes conjuntos de regiões cerebrais e três bandas de frequência, 0.01-0.027 Hz, 0.027-0.073 Hz e 0.07-0.13 Hz, segundo três medidas diferentes: magnitude, *phase-locking* e fase. Por fim, utilizou-se um *software* denominado GraphVar que, através dos valores de coerência adquiridos anteriormente, permitiu a realização de testes estatísticos necessários para a extração das conclusões pretendidas sobre

o objetivo inicial. Para além disso, este *software* também foi utilizado para caracterizar as redes neuronais obtidas, através do cálculo de diferentes medidas topológicas de grafos.

Um último objetivo deste trabalho baseou-se no estudo da interação entre as oscilações lentas do sinal BOLD e as oscilações do intervalo de batimentos cardíacos da frequência cardíaca, por forma a identificar quais as regiões cerebrais onde as diferenças significativas entre a tarefa de movimento livre e as tarefas de repouso, são influenciadas pelo sistema cardiovascular.

1.2 Resumo dos capítulos

Esta tese está organizada em 4 capítulos principais:

- Capítulo 2 ('Conteúdos teóricos'): contém uma revisão da literatura sobre o tema, assim como de todos os conceitos associados ao mesmo, onde se distingue 3 grandes secções: uma referente aos princípios físicos da fMRI; outra sobre estudos do movimento voluntário e respetivos circuitos neuronais; e por fim, uma descrição dos diferentes tipos e medidas de conectividade cerebral, e ainda, das métricas topológicas de grafos.
- Capítulo 3 ('Materiais e Métodos'): descreve os procedimentos experimentais, sujeitos e protocolo de aquisição dos dados de fMRI que serão analisados, e ainda, todas as metodologias implementadas.
- Capítulo 4 ('Resultados e Discussão'): inicialmente serão apresentados os resultados obtidos (e respetivas observações), e posteriormente, será feita uma análise dos mesmos com base na bibliografia existente.
- Capítulo 5 ('Conclusão e Trabalho futuro'): por fim, e como o próprio nome indica, contém as conclusões finais de toda a tese e perspetivas para trabalhos futuros relacionados com este tema.

CONTEÚDOS TEÓRICOS

Neste capítulo será apresentada uma revisão da literatura sobre o tema, assim como de todos os conceitos associados ao mesmo. Está dividido em 3 grandes secções: a primeira relaciona-se com os estudos do movimento voluntário e respetivos circuitos neuronais; a segunda descreve os princípios físicos da fMRI; e a terceira, contém uma descrição dos diferentes tipos e medidas de conectividade cerebral, e ainda, das métricas topológicas de grafos.

2.1 Movimento voluntário

A capacidade de realizar um movimento voluntário é considerada fundamental para a natureza humana [2]. Todos nós temos a forte convicção de que exercemos o controlo voluntário sobre as nossas ações, e que são as decisões conscientes destas que nos levam a agir. Ao mesmo tempo, assume-se que estas mesmas ações, resultam da atividade neuronal nas áreas cerebrais pré-motoras e motoras [8].

O facto de os movimentos voluntários serem independentes de um estímulo, tem complicado o seu estudo a nível experimental, já que envolve um fenómeno intrínseco a um organismo e invisível a um observador [9]. A solução encontrada por muitos neurocientistas para este problema, foi dar a cada participante do estudo experimental uma instrução ou estímulo que apenas determinasse o que este teria de fazer, em uma destas três maneiras: o participante realiza uma ação pré-determinada, mas escolhe quando pretende fazê-la (como foi feito no estudo efetuado para a obtenção dos dados desta tese); o participante realiza uma ação num tempo específico, mas escolhe qual o número de ações que realiza; ou o participante escolhe se pretende ou não realizar a ação [2]. Assim, a informação necessária à realização do movimento era, obrigatoriamente, gerada pelo próprio sujeito, tal como pretendido. No entanto, e apesar das grandes descobertas feitas

neste campo, compreender os mecanismos neuronais subjacentes à preparação destes movimentos, tem sido um desafio de longa data para a Neurociência [10].

Em 1964, Kornhuber e Deecke descobriram uma atividade eletroencefalográfica lenta (frequência inferior a 1 Hz), e negativa, antecedendo um movimento voluntário (fletir um dedo livremente no tempo) entre 1 a 2 s, que designaram como *Bereitschaftpotential*, ou *Readiness Potential* (RP) [11]. Este sinal de EEG foi interpretado como um indicador do processo de preparação de movimentos voluntários (condição necessária para estes ocorrerem), e podia ser dividido em duas componentes, parte inicial e final. Estas, por sua vez, são encontradas em áreas cerebrais distintas, e influenciadas por diferentes fatores como a complexidade e o tipo (fixo ou não) do movimento, respetivamente [12]. Assumindo-se assim a existência de pelo menos dois processos diferentes associados a estas duas componentes. A parte inicial, que começa aproximadamente 2 s antes do movimento, pode ser localizada bilateralmente nas áreas motoras pré-suplementar, do inglês, *Pre-Supplementary Motor Area* (pre-SMA), e suplementar, do inglês, *Supplementary Motor Area* (SMA). A parte final, por sua vez, só surge 400 ms antes do movimento ser iniciado, e ocorre no córtex pré-motor e motor contralateral. A lateralização desta última parte é utilizada para calcular o *Lateralized Readiness Potential* (LRP), e está associada à preparação do movimento específico da mão, aparecendo depois da tomada de consciência [13].

Por ter sido a primeira evidência neurofisiológica de preparação do movimento no cérebro humano, esta descoberta gerou uma vasta e significativa pesquisa nesta área: desde estudos clínicos de pacientes com distúrbios do movimento, como por exemplo na doença de Parkinson [14], até estudos sobre a consciência e livre-arbítrio, como a conhecida experiência de Libet et al. [15], que tem sido, até à data, uma das aplicações do RP mais interessantes. Nesta experiência, como é possível observar na figura 2.1, foi pedido aos participantes que pressionassem um botão sempre que sentissem vontade de o fazer, e ainda, pela observação de um relógio, cujo ponteiro rodava a uma velocidade de 2.5 s por rotação, tentassem memorizar a posição deste no momento em que sentiram pela primeira vez a intenção de agir. Este preciso momento da tomada de consciência foi designado por *w-time*, e era relatado depois do movimento ter ocorrido. Os resultados obtidos mostraram que, em média, o *w-time* foi de aproximadamente 200 ms. Ora, tendo em conta que o RP começa entre 1-2 s antes do movimento, concluiu-se que os movimentos voluntários são iniciados por processos mentais inconscientes, muito antes de surgir a vontade de agir. Libet e os colegas, sugeriram ainda, que este intervalo de tempo entre o *w-time* e a realização do movimento, permitia que o próprio indivíduo pudesse inibir, de forma consciente, uma ação iminente antes da sua execução.

Ao mostrar que a intenção consciente não podia ser a causa da preparação neural e do próprio movimento, foi considerada como uma prova neurocientífica contra o conceito de livre-arbítrio, dando assim início a longos e controversos debates em torno deste tema [16]. Para além disso, e apesar de ter sido bastante replicada, esta experiência foi alvo de muitas críticas, principalmente pela subjetividade imposta pelo *w-time*, que poderá levar a que este não seja de confiança. Um exemplo disso relaciona-se com a forma como

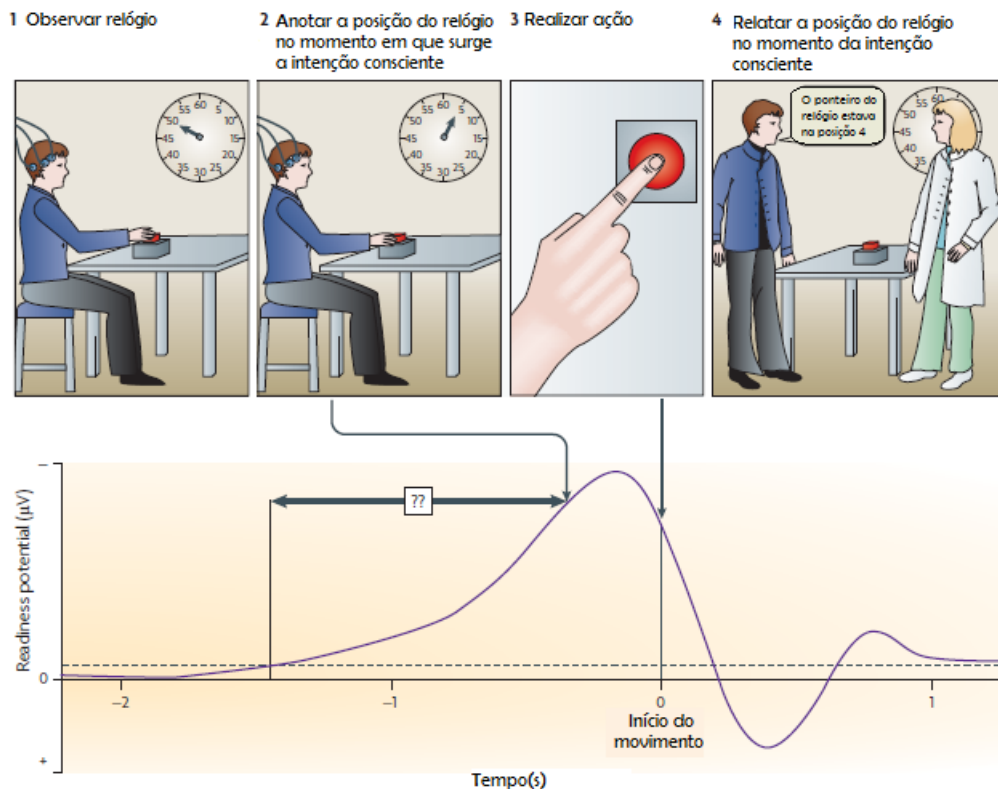


Figura 2.1: Ilustração da experiência de Libet et al.. Os participantes foram solicitados a pressionar um botão sempre que sentissem vontade de o fazer, e ainda, pela observação de um relógio, cujo ponteiro rodava a uma velocidade de 2.5 s por rotação, tentassem memorizar a posição deste no momento em que sentiram pela primeira vez a intenção de agir. Este preciso momento da tomada de consciência foi designado por *w-time*, e era relatado depois do movimento ter ocorrido. Os resultados obtidos mostraram que em média, o *w-time* foi de 200 ms, aproximadamente. Ao comparar este valor com o começo do RP (entre 1-2 s antes do movimento), concluiu-se que os movimentos voluntários eram iniciados por processos mentais inconscientes, muito antes de surgir a vontade de agir. Adaptado de [2].

o participante divide a atenção entre o relógio e a própria preparação motora, que poderá conduzir à obtenção de resultados diferentes. Haggard salienta ainda que a verdadeira ação voluntária proveio da tomada de decisão inicial do participante de fazer parte do estudo, e por isso, os processos decorrentes desta ação, ao contrário da vontade de agir, é que permitem a aquisição dos dados experimentais [2].

Esta interpretação clássica de que o RP está diretamente relacionado com a preparação do movimento, e que a decisão para a sua realização já foi iniciada inconscientemente por processos neuronais, foi desafiada por novas evidências, que vieram provar o contrário. Por exemplo, Haggard e Eimer utilizaram a correlação temporal para investigar a hipótese do RP estar na base da intenção consciente de agir [17]. Os seus resultados demonstraram que ao contrário do próprio RP, o LRP era um melhor candidato para o processo cerebral relacionado com a intenção motora. Conclusões essas que também estão em concordância

com o estudo de Trevena e Miller [13].

Outros estudos mostraram ainda que o RP poderá ser encontrado na ausência de planeamento e execução dos movimentos: em 2010, Trevena e Miller mostraram que o RP não dependia da decisão para realizar um movimento, já que não foram encontradas diferenças entre uma decisão para mover e outra para não mover [18]. Mais recentemente, Alexander et al. realizaram uma experiência parecida à de Libet et al., onde os participantes teriam de escolher 1 de 4 letras colocadas dentro de um relógio, e memorizar a posição deste no momento da tomada de decisão. Nalguns ensaios os sujeitos apenas tinham de tomar a decisão, enquanto que noutros, teriam de tomar a decisão e ainda pressionar um botão. Verificou-se que ambos os casos eram antecidos pelo RP, e que este não se distinguia entre os ensaios com, e sem resposta motora [19]. Estudos como estes mostram assim que o RP não reflete uma preparação motora, mas sim, um sinal neural do processo de decisão [16], e que devido à fraca relação causal entre o início da atividade cerebral e o tempo da intenção consciente de agir sugerem que o RP reflete processos independentes do livre-arbítrio e consciência [20].

Em 2012, um estudo realizado por Schurger et al. veio aumentar as evidências em relação a esta interpretação anterior do RP, pela implementação de um modelo de decisão estocástica [21]. Esta decisão, que ocorre por volta de 150 ms antes do movimento, estava associada a flutuações estocásticas em curso na atividade neural, e só acontecia se estas atingissem um determinado limiar. Como é possível ver pelo tempo em que esta decisão se sucede, verifica-se que o *w-time* referido na experiência de Libet et al. (aproximadamente 200 ms) está em concordância com este modelo, o que permitiu resolver o problema do livre-arbítrio, já que a parte do RP correspondente a antes do *w-time* não está mais associada à preparação do movimento. O facto de processos cognitivos e motivacionais terem uma contribuição no RP, é também outro indicador de que este não representa um sinal neural de preparação do movimento, sendo que um dos estudos que provou isso foi o de Rigoni et al., onde se comparou um grupo de indivíduos cuja crença no livre-arbítrio foi reduzida através de informações específicas, com outro grupo que não recebeu esta informação [22]. Foi verificado que o primeiro grupo apresentava um sinal de RP de amplitude inferior ao segundo, entre 1300 ms e 600 ms antes da pressão do botão, o que na verdade corresponde à componente inicial deste.

Outra interpretação do RP foi proposta mais recentemente por Schmidt et al., designada por *Slow Cortical Potential Sampling Hypothesis* (SCPSH), que sugeria que os movimentos voluntários eram facilitados, ou impedidos, por flutuações contínuas dos potenciais corticais lentos (<1 Hz), uma vez que estes eram mais prováveis de ocorrer em declives, ou picos, negativos destas flutuações [16]. Assim, principalmente a parte inicial do RP, era considerada como um modulador da iniciação do movimento, e não um fator causal necessário para este ocorrer.

Depois da realização da experiência de Libet et al., diversos estudos começaram por investigar a base neuronal da intenção consciente. Por exemplo, Soon et al., através da utilização da fMRI, descobriram que o resultado de uma decisão, neste caso, escolher

com qual das mãos iria ser realizado o movimento, podia ser codificado na atividade cerebral dos córtices pré-frontal e parietal, até 10 s antes de entrar em consciência [23]. Concluíram assim, que este intervalo de tempo poderia estar associado ao funcionamento de uma rede de áreas cerebrais de controlo de alto-nível, responsáveis por preparar a decisão de agir muito antes de esta ser consciente.

2.1.1 Redes neuronais ativas nos movimentos: livres e impulsionados por estímulo

A identificação de redes de áreas cerebrais responsáveis pela preparação e planeamento de movimentos voluntários, mostrou ser a melhor prova neurocientífica contra interpretações retrospectivas, em que estes eram iniciados pela intenção consciente de agir. Para além disso, a ideia de que as ações voluntárias são de certa forma especiais, é apoiada por evidências de vias neuronais distintas associadas às ações voluntárias e impulsionadas por estímulos, em que certas áreas motoras corticais apresentam preferência por uma dessas ações [24].

Em 2008, Haggard sugeriu a existência de duas redes neuronais envolvidas no movimento voluntário (ver figura 2.2) [2]. A primeira rede inicia-se na pre-SMA, que por sua vez, recebe informação dos gânglios basais e do córtex pré-frontal, e termina no Córtex Motor Primário (M1), por meio da SMA. Na segunda rede, a informação vinda do Córtex Sensorial Primário (S1) é transmitida para representações de nível intermediário no córtex parietal, e daí, para a parte lateral do córtex pré-motor, que se projeta para M1. Apesar de ambas as redes neuronais serem importantes para as ações voluntárias, a segunda rede está mais ligada a situações em que é necessário agir imediatamente, como por exemplo, na escolha entre ações alternativas, ao contrário da primeira, em que não há qualquer instrução imediata para iniciar o movimento.

O papel da SMA e pre-SMA, na preparação de movimentos voluntários foi demonstrado quando se identificou estas áreas como fontes principais da parte inicial do RP, enquanto que o M1 contralateral, estava associado à parte final deste [12]. Diversos estudos têm vindo a comprovar que a atividade na pre-SMA antecede a da SMA, que por sua vez, antecede a do M1. Por exemplo, Cunnington et al., através de uma análise de correlação dos dados de fMRI, verificaram que a atividade da SMA antecede a do M1, em 0.52 s (valor médio) [25].

Num estudo realizado em 2002, Cunnington et al. utilizaram a fMRI para examinar a localização espacial e os tempos relativos de ativação de áreas cerebrais envolvidas nos movimentos voluntários, e impulsionados por estímulos [26]. Os resultados obtidos, demonstraram que em ambos os movimentos houve ativação das áreas motoras mediais, incluindo a pre-SMA, a SMA e o córtex cingulado rostral, assim como ativação nos córtices insular, parietal superior e motor primário contralateral. No entanto, verificou-se que os gânglios basais só foram ativos no movimento voluntário, salientando-se assim, o papel destes neste tipo de ações. Relativamente aos tempos de ativação, foi observado

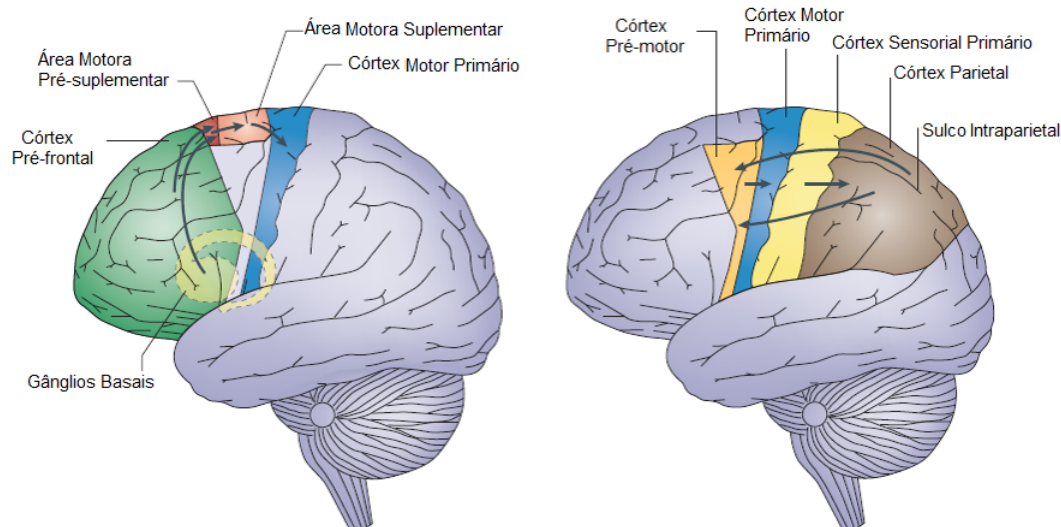


Figura 2.2: Redes neurais do movimento voluntário. A primeira rede (imagem da esquerda) começa nos gânglios basais e córtex pré-frontal, que em seguida transmitem informação para a pre-SMA, e desta para o M1, por meio da SMA. Na segunda rede (imagem da direita), a informação vinda do S1 é transmitida para representações de nível intermediário no córtex parietal, e daí, para a parte lateral do córtex pré-motor, que se projeta para M1. Adaptado de [2].

que a resposta hemodinâmica da pre-SMA começou significativamente mais cedo nos movimentos voluntários, em comparação com os movimentos impulsionados por estímulo. Sendo mais uma evidência do envolvimento desta área nos processos cerebrais de preparação de ações voluntárias.

Nguyen et al. investigaram a interação entre a atividade neuronal da SMA e do córtex cingulado medial anterior, do inglês, *Anterior Mid-Cingulate Cortex* (aMCC), na preparação de movimento voluntários, através da aquisição simultânea de dados de EEG e fMRI [10]. Pela análise dos resultados, verificaram que estas áreas possuem conexões recíprocas fortes, que agem para sustentar a atividade uma da outra, e que essas mesmas interações eram mediadas pela amplitude do RP. Desta forma, concluíram que a conectividade efetiva entre estas regiões está subjacente ao seu contributo funcional na preparação de movimentos voluntários.

O papel das oscilações lentas na iniciação do movimento voluntário, assim como a conectividade funcional entre a insula e SMA, foram estudados por Pfurtscheller et al. no ano de 2014, através da análise dos valores de coerência da transformada de Wavelet dos sinais BOLD de fMRI [4]. Os resultados demonstraram que as oscilações lentas destes sinais (banda de frequência entre 0.07 e 0.13 Hz) na insula, antecediam as da SMA, entre 0.5 e 1 s. Sugerindo assim que as oscilações hemodinâmicas lentas nestas duas áreas, poderão condicionar a iniciação do movimento voluntário.

2.1.1.1 Circuitos neuronais obtidos em teses anteriores

Como já mencionado inicialmente, os dados utilizados nesta tese já foram previamente analisados no contexto de outras teses, no entanto, e contrariamente ao estudo presente, não fizeram uma análise localizada no tempo, mas sim de toda a série temporal BOLD. Os resultados relativos a cada tese serão apresentados na forma: "Tarefa1">"Tarefa2", o que significa que a "Tarefa1" apresenta maior medida de conectividade que a "Tarefa2".

Uma dessas teses foi realizada por João Gens dos Santos desde o final de 2015, até ao início de 2016, onde este utilizou o *phase-locking* como medida de conectividade [27]. Para além disso, foi somente analisada uma banda de frequência, de 0.07 a 0.13 Hz, e um conjunto de regiões cerebrais do atlas *Automated Anatomical Labeling* (AAL). Quanto aos resultados obtidos, verificou-se que as comparações entre tarefas ("Repouso", "Movimento Livre", "Movimento com estímulo") que apresentaram conexões significativas foram:

- "Repouso">"Movimento Livre" – fortes conexões no hemisfério esquerdo entre a insula e as regiões do calcarino, cíngulo anterior, precuneus, M1 e SMA. Outras ligações também foram encontradas associadas ao cíngulo posterior e medial, S1 e gânglios basais (núcleo caudado e putâmen).
- "Repouso" e "Movimento Livre" < "Movimento com estímulo" – verificou-se um grande número de ligações entre regiões do córtex motor como a SMA, M1 e S1, do córtex visual, como o calcarino, e ainda, no núcleo caudado dos gânglios basais e insula. A maior parte destas conexões encontrava-se no hemisfério esquerdo.

A tese realizada na sequência da anterior foi feita por João Calisto durante o ano de 2016, onde este estudou a magnitude da coerência num conjunto de regiões do atlas AAL [28]. A sua análise foi baseada em 3 bandas de frequência distintas: 0.06-0.10 Hz, 0.07-0.13 Hz e 0.10-0.16 Hz, obtendo-se os seguintes resultados mais significativos:

- **Banda de frequência de 0.06-0.10 Hz:** relativamente à comparação "Movimento Livre">"Movimento com estímulo" no ensaio A, verificaram-se fortes conexões entre a insula e as regiões: M1, SMA, calcarino, precuneus e parte opercular do giro frontal inferior, tudo no hemisfério esquerdo. O precuneus também apresentou ligações com a SMA, cíngulo medial, M1 e parte opercular do giro frontal inferior. No ensaio B salientou-se o envolvimento no cíngulo anterior esquerdo com a insula e a parte opercular do giro frontal inferior nos hemisférios esquerdo e direito, respetivamente. Quanto às comparações "Repouso">"Movimento Livre" foi destacada a região do cíngulo posterior esquerdo que apresentou conexões significativas com áreas do mesmo hemisfério, como o M1, parte opercular do giro frontal inferior, SMA, insula, precuneus e cíngulo anterior (este também no hemisfério direito). A comparação oposta revelou a presença de conectividade entre o precuneus e áreas como a insula, o M1 e a parte opercular do giro frontal inferior, no hemisfério direito.

- **Banda de frequência de 0.07-0.13 Hz:** nas comparações onde "Repouso">"Movimento Livre", verificou-se que os resultados foram mais ou menos semelhantes aos anteriores, destacando-se novamente o cíngulo posterior. Quanto ao "Movimento Livre">"Movimento com estímulo" as únicas conexões significativas foram entre o pré-cuneus e a insula, e entre esta e a SMA e M1. Acrescentando a estas houve ainda ligações entre o cíngulo medial direito e o cíngulo posterior de ambos os hemisférios.
- **Banda de frequência de 0.10-0.14 Hz:** de um modo geral, e comparativamente às bandas de frequência anteriores, os resultados apresentaram conexões menos significativas, exceto para o cíngulo posterior esquerdo que permaneceu bastante ativo com outras regiões do mesmo hemisfério.

2.2 Imagem por Ressonância Magnética

A imagem por Ressonância Magnética, do inglês, *Magnetic Resonance Imaging* (MRI), é uma técnica de diagnóstico não invasiva, que permite a obtenção de imagens anatômicas de elevada resolução e sensibilidade ao contraste entre diferentes tecidos moles do corpo humano. Para além disso, o facto de ser um método seguro, por não utilizar radiação ionizante, tem ultrapassado outras modalidades como a Tomografia Computorizada (TC) [29]. Com os grandes avanços alcançados ao nível do *hardware* e *software* nas últimas décadas, tornou-se possível a produção de imagens em períodos de tempo mais curtos, o que fez aumentar o potencial deste método em aplicações clínicas e de investigação[30].

O principal foco desta técnica, que tem como base o princípio de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), descoberta em estudos independentes por Bloch et al. [31] e Purcell et al. [32], no ano de 1946, assenta nas diferentes propriedades magnéticas dos núcleos atômicos. O núcleo de maior interesse é o do átomo de hidrogénio, constituído por um próton de carga positiva, devido ao seu momento magnético intenso e abundância nos tecidos biológicos (visto que é um dos constituintes da água e da gordura) [33].

Quando os prótons não se encontram na presença de um campo magnético, os respetivos momentos magnéticos apresentam orientações aleatórias, pelo que a magnetização resultante será nula. No entanto, assim que um campo magnético forte é aplicado, como no caso de um paciente colocado dentro de um *scanner* de MRI, estes tendem a ser alinhados na direção deste e em duas orientações possíveis (dois níveis discretos de energia). Como existe um maior número de prótons na direção paralela (nível de menor energia), é originada uma magnetização na direção longitudinal (M_z). Esta separação de energia em dois níveis leva a que os prótons precessem com uma fase aleatória entre eles, mas numa frequência angular específica ao núcleo e campo magnético, designada por frequência de Larmor.

Por forma a medir a magnetização resultante (ver figura 2.3), é necessário aplicar um pulso de Radiofrequência (RF) perpendicularmente ao campo e na frequência de

Larmor, fazendo com que os núcleos entrem no estado excitado, pela absorção da energia RF. Isto irá levar a que estes se agrupem, entrando em coerência de fase e passem do plano longitudinal para o transversal, o que dará origem à magnetização transversal (M_{xy}). Quando o pulso é desligado, os núcleos emitem a energia absorvida e a amplitude da magnetização transversal é medida ao longo do tempo pelas bobinas recetoras de RF, dando origem a um sinal elétrico sinusoidal designado por *Free Induction Decay* (FID), que será posteriormente convertido numa imagem de Ressonância Magnética (RM).

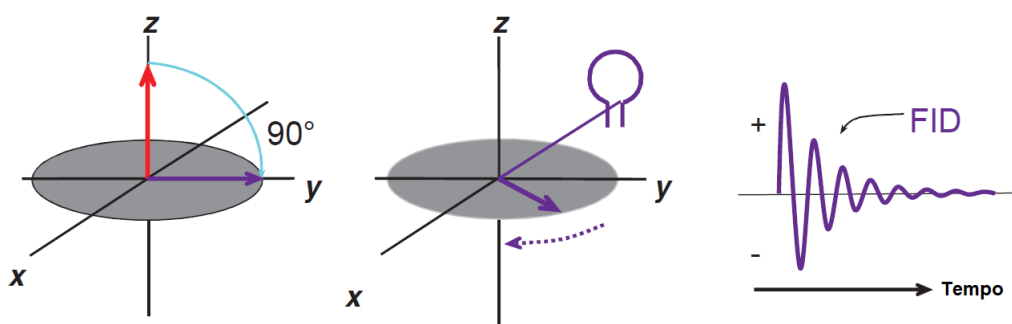


Figura 2.3: Na imagem da esquerda é possível observar a conversão da magnetização longitudinal, M_z (a vermelho), para a magnetização transversal, M_{xy} (a roxo), após a aplicação do pulso RF de 90° , na frequência de Larmor. Posteriormente, a M_{xy} ficará a precessar no plano xy, induzindo um sinal na bobina recetora (imagem central). Assim que o pulso RF é desligado, esse sinal, também designado por FID (imagem da direita), que possui variações positivas e negativas à medida que oscila na frequência de Larmor, vai decaindo ao longo do tempo devido à perda de coerência de fase. Adaptado de [29].

Este processo de recuperação do equilíbrio é realizado através de dois mecanismos:

- **Relaxamento transversal (ou spin-spin)**: onde ocorre a redução da magnetização no plano transversal, devido à perda de coerência de fase dos núcleos.
- **Relaxamento longitudinal (ou spin-rede)**: em que a magnetização longitudinal é recuperada à medida que os núcleos retornam ao alinhamento original.

Ambos os mecanismos, como é possível ver nas figuras 2.4 e 2.5, são modelados por equações exponenciais, cujas constantes temporais são específicas a cada tecido e definidas por: T1 (na relaxação longitudinal) e T2 (na relaxação transversal). O T1 é o tempo necessário para a recuperação de 63 % de M_z , e o T2, o tempo decorrido até ser alcançado 37 % do valor máximo de M_{xy} . Na presença de inhomogeneidades magnéticas, como um campo magnético não homogêneo, ou a presença de agentes de suscetibilidade nos tecidos (por ex.: materiais de contraste de MRI), ocorre a perda de coerência de fase mais rapidamente, levando ao surgimento de um tempo de decaimento transversal inferior a T2, designado T2* [34].

A obtenção de uma imagem de RM, que se representa por uma matriz de números correspondentes às localizações espaciais, é conseguida através da aplicação de 3 gradientes de campo (Seleção de corte, Codificação em fase e Codificação em frequência), que consistem na sobreposição de variações lineares de campo magnético, no campo principal (B_0)

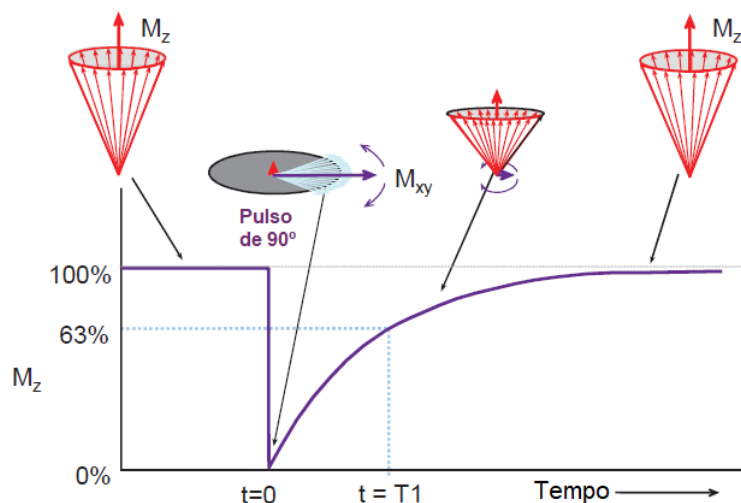


Figura 2.4: Ilustração do Relaxamento Longitudinal. Ao ser aplicado um pulso RF de 90° , a magnetização longitudinal (M_z) passa do seu valor máximo de equilíbrio para $M_z = 0$. Em seguida, a recuperação de M_z para o equilíbrio ocorre exponencialmente, através da constante de relaxação T_1 . Passado um intervalo de tempo igual a T_1 , 63 % de M_z é recuperado. Adaptado de [29].

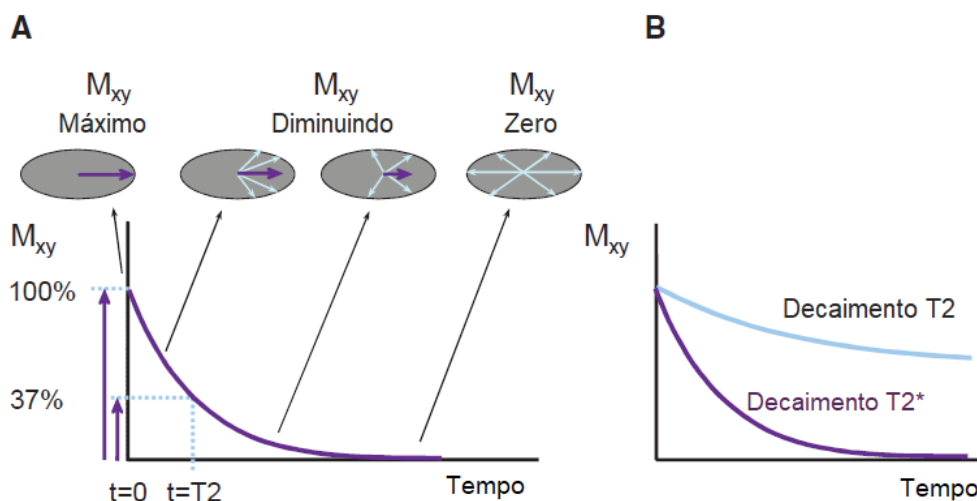


Figura 2.5: **(A)** Ilustração do Relaxamento Transversal. A perda de coerência de fase da magnetização transversal M_{xy} dá-se de forma exponencial com uma constante de decaimento igual a T_2 , que corresponde ao tempo necessário até M_{xy} atingir 37 % da sua magnetização inicial (valor máximo). **(B)** Decaimento de T_2 e T_2^* , ao longo do tempo. O decaimento T_2^* dá-se mais rapidamente que o T_2 , devido às inhomogeneidades do campo, que provocam uma perda da coerência de fase mais rápida. Adaptado de [29].

[29]. Uma vez que a frequência de precessão dos prótons é dependente da intensidade de B_0 , permite que a frequência do sinal seja alterada dependendo da sua posição ao longo do gradiente. A fase de precessão, por sua vez, também pode ser modificada, conforme a duração da aplicação do gradiente. Assim, a aplicação de pulsos simultâneos de RF,

levará a que os prótons cuja frequência de Larmor se enquadra na largura de banda do pulso RF entrem em ressonância, através da absorção de energia.

Posteriormente, os dados de RM são guardados numa matriz no domínio da frequência, designada por *k-space*. Esta é uma matriz de duas dimensões, cujas entradas são valores positivos e negativos da frequência espacial, codificados como números complexos, onde a componente real e imaginária corresponde à magnitude e fase do sinal de RM. Em seguida, é aplicada uma transformada de Fourier inversa que irá passar do domínio da frequência para o espacial, obtendo-se assim a imagem de RM.

2.2.1 Imagem por Ressonância Magnética Funcional

A fMRI veio revolucionar a Neurociência ao permitir localizar e estudar *in vivo*, uma ampla gama de funções do Sistema Nervoso Central (SNC), incluindo o processamento de informação em sistemas sensoriais, motores, cognitivos e linguísticos, tornando-se assim numa ferramenta indispensável no meio científico [35]. Apesar de ser uma técnica baseada na MRI, distingue-se desta por adquirir neuroimagens funcionais, ao invés de anatómicas, através do estudo de alterações na oxigenação, fluxo e volume sanguíneo que ocorrem em resposta à atividade neuronal – resposta hemodinâmica. Estas mudanças metabólicas e fisiológicas, podem ser resultantes de variações no estado cognitivo induzido por uma tarefa/estímulo (por ex.: atividade motora, como pressão de um botão com o indicador, ou estímulo visual), ou de processos não regulados no cérebro em repouso [36].

Nas últimas décadas, têm sido desenvolvidos diversos métodos capazes de realizar o mapeamento cerebral por fMRI. Estes, por sua vez, podem ser sensíveis à perfusão sanguínea local, como o *Arterial Spin Labeling* (ASL) [37], ao volume sanguíneo, como a injeção de agentes de contraste de RM [38], ou à oxigenação sanguínea, como o contraste BOLD desenvolvido por Ogawa et al. [39], em 1990, que é o método mais utilizado.

O grande ponto de partida do contraste BOLD são as diferentes propriedades magnéticas da Hemoglobina (Hb), uma vez que esta quando transporta oxigénio é diamagnética (oxi-Hemoglobina, HbO₂), caso contrário, torna-se paramagnética (desoxi-Hemoglobina (dHb)). Assim que uma área é ativada no cérebro, ocorre um aumento do fluxo e volume sanguíneo nesta região, visto que há necessidade de um maior consumo de oxigénio, e outros nutrientes, como a glucose [30]. Estes acontecimentos irão levar a que haja um aumento mais do que necessário do fluxo sanguíneo, resultando numa diminuição da concentração local de dHb. A redução de dHb irá provocar distorções na homogeneidade do campo magnético em redor do tecido cerebral, aumentando assim o T2*. Passados 1 a 2 s ocorre uma resposta de vasodilatação, aumentando a concentração de HbO₂ e reduzindo a de dHb, o que irá resultar numa subida do sinal BOLD, como é possível observar na figura 2.6.

A resposta BOLD que se observa posteriormente à aplicação de um estímulo é por isso uma medida indireta da atividade neuronal, sendo normalmente caracterizada pela função de resposta hemodinâmica, do inglês, *Haemodynamic Response Function* (HRF).

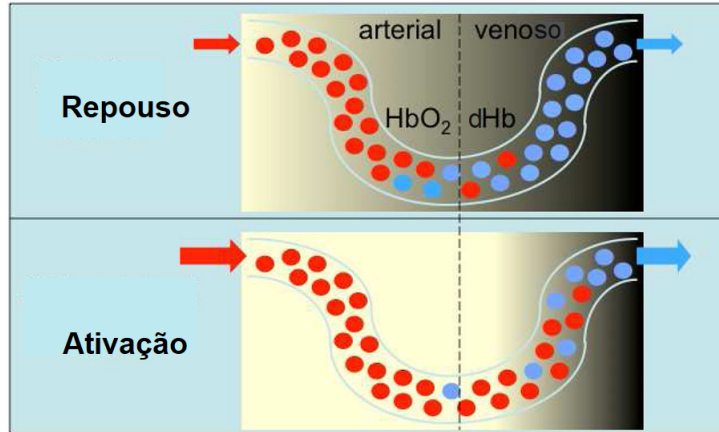


Figura 2.6: Esboço de um capilar no tecido cerebral durante o repouso (em cima) e uma ativação (em baixo). Os círculos a vermelho representam a HbO_2 , e os a azul, a dHb . É possível observar também que o sinal de MRI é reduzido no lado do sangue venoso devido à presença de dHb (imagem com tom mais escuro). No entanto, assim que ocorre um aumento da concentração de HbO_2 , pela subida do fluxo sanguíneo na região ativada, dá-se um aumento do sinal BOLD, tornando a imagem mais clara. Adaptado de [36].

Tal como é possível ver na figura 2.7, esta apresenta normalmente um atraso de 1 a 2 s relativamente ao começo da atividade neuronal, atingindo o seu valor máximo entre os 5 e os 8 s. Depois de atingido o pico, observa-se o *post stimulus undershoot*, onde o sinal decresce para um valor inferior à linha de base, mantendo-se assim durante 20 s ou mais [40]. Este efeito deve-se ao facto de o fluxo sanguíneo decrescer mais rapidamente que o volume sanguíneo, permitindo que uma grande concentração de dHb permaneça nas regiões cerebrais ativadas anteriormente. Para além disto, é também possível observar inicialmente uma ligeira depressão no sinal, designada por *initial dip*, que apesar de ser mais rara de encontrar, resulta da extração de oxigénio antes do aumento do fluxo do sangue oxigenado [6].

Normalmente, e considerando um sistema linear invariante no tempo, a resposta BOLD observada, $x(t)$, resulta da combinação da função de apresentação do estímulo $v(t)$, com uma HRF canónica, $h(t)$, através de uma operação matemática de convolução:

$$x(t) = (v * h)(t) \quad (2.1)$$

Na figura 2.8 é representada graficamente esta operação de convolução e o respetivo resultado na resposta BOLD, quando se aplica um estímulo aleatório. No entanto, existem outros métodos, que apesar de serem menos utilizados, permitem fazer a modelação do sinal BOLD, como o modelo de Balloon, que é um modelo fisiológico não linear [42].

Comparativamente a outras técnicas de imagem funcional, como a Tomografia por emissão de positrões, do inglês, *Positron Emission Tomography* (PET), EEG e Magnetoencefalografia (MEG), a fMRI é a que possui uma resolução espacial mais elevada, com o tamanho do pixel a variar entre 3 e 4 mm [36]. No entanto, alguns dos pontos fracos desta técnica baseiam-se na baixa resolução temporal (devido ao desfasamento de tempo

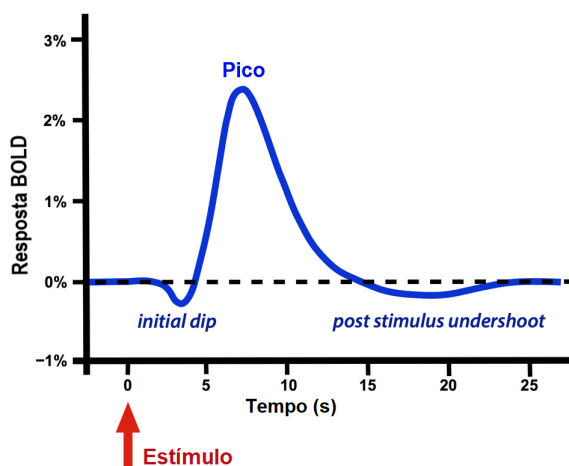


Figura 2.7: Ilustração da resposta BOLD a um estímulo único, onde se pode observar o *initial dip*, que resulta da extração de oxigénio antes do aumento do fluxo do sangue oxigenado, e o *post stimulus undershoot*, em que o fluxo sanguíneo decresce mais rapidamente que o volume sanguíneo, permitindo que uma grande concentração de dHb permaneça nas regiões cerebrais ativadas anteriormente. Adaptado de [41].

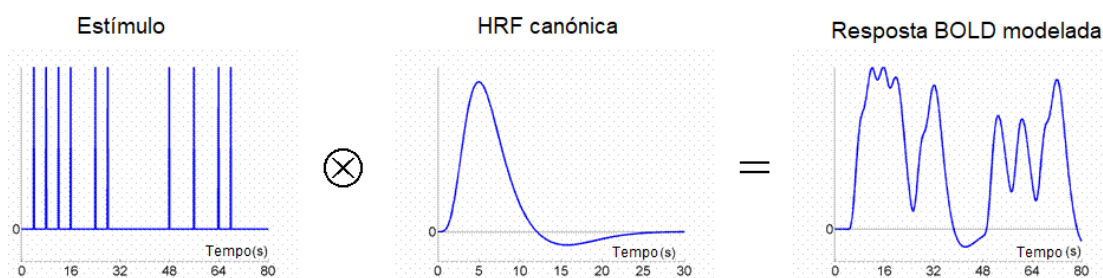


Figura 2.8: Representação gráfica da resposta BOLD modelada (imagem da direita) pela operação matemática de convolução entre a função de apresentação dos estímulos (imagem da esquerda) e a HRF canónica (imagem central). Adaptado de [43]

de 5-8 s, entre a resposta hemodinâmica e a atividade neuronal), por comparação com EEG, por exemplo, e no surgimento de artefactos provenientes de diversas fontes como: movimento da cabeça e do cérebro, processos de interpolação e reconstrução, e efeitos vasculares associados a flutuações fisiológicas periódicas, como a respiração (0.2-0.3 Hz) e o batimento cardíaco (1 Hz, aproximadamente) [6].

Análise estatística

O modelo linear generalizado, do inglês, *General Linear Model* (GLM), tem sido o método estatístico mais utilizado para analisar dados de fMRI, permitindo estabelecer relações entre a atividade cerebral e as tarefas realizadas [40]. Essencialmente, o GLM considera os dados de fMRI (Y) como a soma ponderada de diferentes funções do modelo

(matriz design, X), com pesos desconhecidos (β) e ruído gaussiano aleatório (ϵ), definindo-se pela seguinte expressão:

$$Y = X\beta + \epsilon, \quad (2.2)$$

onde $\epsilon \sim N(0, V)$, sendo V a matriz de covariância que engloba informações sobre as autocorrelações temporais dos dados. Em seguida, a análise irá consistir no ajustamento dos modelos aos dados, por forma a estimar os parâmetros desconhecidos que definem as funções do modelo.

Na maioria dos estudos, é de grande interesse realizar inferências ao nível do grupo em dados de fMRI, como por exemplo, comparar um grupo de pacientes com outro de controlo. Tendo em conta a estrutura hierárquica destes dados, uma das formas de os analisar é utilizar um modelo GLM por efeitos mistos, em que combina a variância entre indivíduos e a variância dentro de cada um, permitindo extrair conclusões para a população em geral [44]. Apesar desta análise poder ser feita de uma vez só (com apenas um modelo/nível), usualmente utiliza-se uma abordagem mais acessível designada por *Summary statistics* a dois níveis, já que permite reduzir o tempo e as dificuldades do ponto de vista computacional [45]. No primeiro nível os dados de cada sujeito são analisados separadamente, permitindo obter as médias individuais e as variâncias dentro de cada um. Temos assim, para o indivíduo i :

$$Y_i = X_i\beta_i + \epsilon_i \quad (2.3)$$

com $\epsilon_i \sim N(0, V_i)$. Por fim, no segundo nível, irão ser utilizados os parâmetros estimados de todos os indivíduos (tanto a variância, como os $\hat{\beta}_i$), para fazer as inferências pretendidas ao nível do grupo através do modelo [44]:

$$\hat{\beta}_i = X_g\beta_g + \epsilon_g \quad (2.4)$$

onde $\epsilon_g \sim N(0, \sigma^2)$.

Por vezes, a utilização de contrastes é de grande interesse neste contexto, uma vez que permite estabelecer comparações entre os parâmetros estimados de cada grupo ($\hat{\beta}_g$). Para tal, é escolhido um vetor de contrastes unidimensional (c) que irá especificar a combinação linear destes parâmetros, $c\hat{\beta}_g$. No caso em que se pretende comparar dois grupos ($G1$ e $G2$, por exemplo), alguns dos vetores de contraste mais comuns e respetivo efeito de interesse seriam:

- $c = [1 \ 0]$: permite verificar o efeito de um grupo só, neste caso do $G1$ - onde a hipótese nula seria $H_0 = 1.\hat{\beta}_1 + 0.\hat{\beta}_2$
- $c = [1 \ 1]$: permite verificar a contribuição de ambos os grupos ($G1+G2$) - onde a hipótese nula seria $H_0 = 1.\hat{\beta}_1 + 1.\hat{\beta}_2$
- $c = [1 \ -1]$: permite verificar quando o grupo 1 é superior ao grupo 2 ($G1>G2$) - onde a hipótese nula seria $H_0 = 1.\hat{\beta}_1 - 1.\hat{\beta}_2$

2.3 Conetividade Cerebral

Compreender a organização de uma rede tão complexa como a do cérebro humano, é o primeiro passo para perceber as suas funções como um sistema integrado [46]. Inicialmente, os estudos neurocientíficos baseavam-se na localização de regiões que eram ativas pela realização de certas tarefas. No entanto, e com os contínuos avanços ao nível de técnicas não invasivas de análise da função cerebral, o estudo da conetividade cerebral, em que se considera o cérebro como uma entidade dinâmica cujo funcionamento depende da interação e comunicação entre diversas regiões, tem despertado grande interesse junto da comunidade científica [47].

A conetividade cerebral pode ser definida e medida de diversas formas, dependendo do método utilizado para observar a anatomia e fisiologia do cérebro, e da maneira como os dados neuronais são analisados [48]. Contudo, é possível distinguir três tipos principais de conetividade cerebral: conetividade anatómica ou estrutural, conetividade funcional e conetividade efetiva [49]:

- **Conetividade anatómica/estrutural:** refere-se às conexões anatómicas entre pares de regiões cerebrais, que normalmente correspondem a tratos de matéria branca [50]. As técnicas de imagem ponderada por difusão, como a *Diffusion Tensor Imaging* (DTI), apesar de terem uma baixa resolução espacial, permitem a reconstrução desses tratos no cérebro e são úteis na marcação de alterações temporais que possam ocorrer nos mesmos [51].
- **Conetividade funcional:** corresponde à correlação temporal entre a atividade de duas regiões cerebrais, independentemente da existência ou não de ligação anatómica [50]. É considerada como um conceito estatístico, e dependendo da medida utilizada, pode refletir interações lineares ou não lineares, assim com interações em diferentes escalas de tempo [52]. O seu estudo tem sido baseado através de técnicas de mapeamento funcional, como a fMRI, EEG, MEG e PET.
- **Conetividade efetiva:** as conexões efetivas representam influências causais diretas e indiretas, que uma região cerebral produz noutra [50]. Diversas técnicas têm sido utilizadas para estudar este tipo de conetividade, como por exemplo, a *Dynamic Causal Modeling* (DCM), a causalidade de Granger e a combinação de neuroimagens funcionais com a estimulação magnética transcraniana, do inglês, *Transcranial Magnetic Stimulation* (TMS).

Enquanto que a conetividade estrutural poderá permanecer bastante estável, em escalas de tempo de pelo menos segundos a minutos, o mesmo não acontece com a conetividade funcional e efetiva, já que podem sofrer rápidas reconfigurações na ordem de centenas de milissegundos no decurso da atividade neuronal espontânea, ou provocada

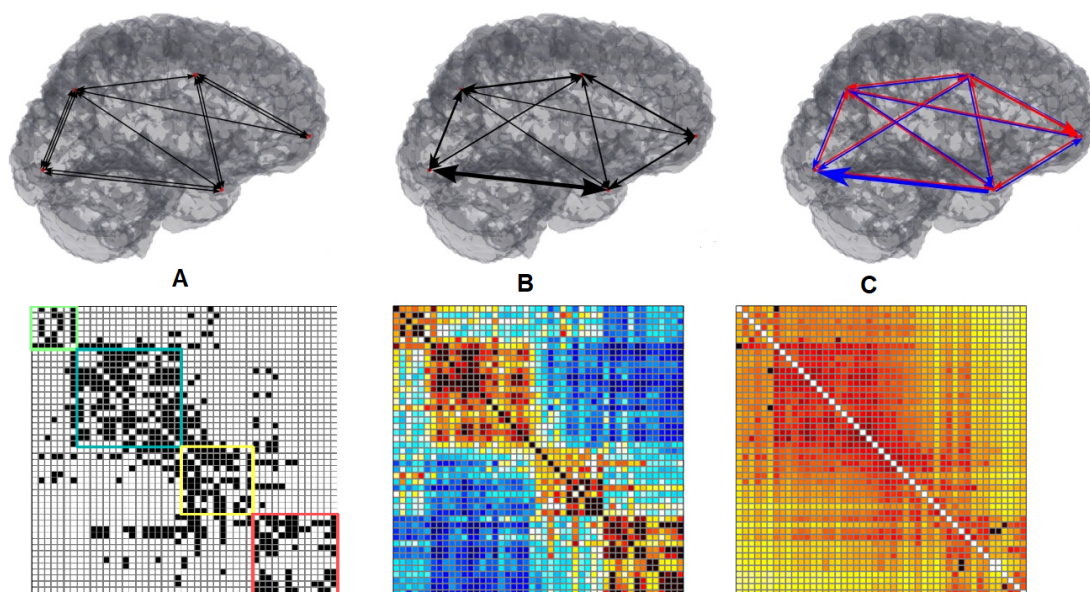


Figura 2.9: Representação 3D dos 3 tipos de conectividade cerebral (em cima) e respectivas matrizes de conectividade (em baixo), onde as linhas e colunas irão representar as regiões cerebrais, e as entradas da matriz, as conexões. **(A)** Conectividade Anatômica. **(B)** Conectividade Funcional. **(C)** Conectividade Efetiva. Adaptado de [50], [53].

por uma tarefa [46]. Tal como se pode observar na figura 2.9, todos os tipos de conectividade podem ser representados pelas suas matrizes de conectividade (adjacência), onde as linhas e colunas irão representar as regiões cerebrais, e as entradas da matriz, as conexões.

2.3.1 Medidas de conectividade funcional

Como já foi referido anteriormente, a conectividade funcional pode ser estimada através de diversas medidas que se podem distinguir entre lineares: como a coerência e correlação cruzada, ou não lineares, como a informação mútua e a sincronização generalizada [54].

A correlação cruzada é uma das medidas mais utilizadas no domínio do tempo, fornecendo uma medida (entre -1 e 1) da relação de acoplamento linear simultânea entre duas séries temporais. Quando os cursos de tempo de duas regiões cerebrais são altamente correlacionados positivamente (valores de correlação perto de 1), indica que ambas são ativas mais ou menos ao mesmo tempo. Por outro lado, uma alta correlação negativa (valores perto de -1) implica que quando uma região é mais ativa, a outra é menos ativa [52]. No entanto, as técnicas de correlação não conseguem diferenciar entre informações de frequência e fase dos sinais. Por esta razão, a medida de coerência (domínio da frequência) tem sido bastante aplicada, uma vez que permite uma análise separada da frequência e fase [55].

A coerência baseada na transformada de Fourier, permite uma análise invariante no tempo entre séries temporais, assumindo que os sinais neuronais são estacionários [56].

Define-se por:

$$\rho(f) = \frac{|S_{xy}(f)|}{\sqrt{S_{xx}(f) \cdot S_{yy}(f)}} \quad (2.5)$$

onde $S_{xy}(f)$ é a densidade espectral cruzada entre duas séries temporais x e y , ou seja, a transformada de Fourier da função de correlação cruzada [57].

Esta medida de coerência também pode ser aplicada no domínio tempo-frequência, através da utilização da transformada de Wavelet, que ao contrário da análise de Fourier, fornece uma medida da coerência em função do tempo, permitindo estudar a coerência entre sinais não estacionários. Essencialmente, as Wavelets irão decompor a série temporal em componentes específicas a uma determinada frequência e tempo, através de uma janela que se move ao longo do tempo (em vez de fixa, como na análise de Fourier), e se adapta automaticamente à frequência do sinal. Apesar de existir uma diversidade de famílias de Wavelet, a de Morlet é a mais utilizada, tendo em conta a sua simplicidade e boa adequação para estimativas espectrais, definindo-se para a frequência f , e tempo τ :

$$\psi_{\tau,f}(u) = \sqrt{f} \cdot \exp(i2\pi f(u - \tau)) \cdot \exp\left(-\frac{(u - \tau)^2}{\sigma^2}\right) \quad (2.6)$$

onde $\psi_{\tau,f}(u)$ é dado como o produto de uma onda sinusoidal na frequência f , com uma função Gaussiana centrada no tempo τ , e desvio padrão σ proporcional ao inverso de f .

A coerência de wavelet é então dada em função do tempo t e frequência f , por:

$$WCo(t, f) = \frac{|SW_{xy}(t, f)|}{\sqrt{SW_{xx}(t, f) \cdot SW_{yy}(t, f)}} \quad (2.7)$$

em que,

$$SW_{xy}(t, f) = \int_{t-\delta/2}^{t+\delta/2} W_x(\tau, f) \cdot W_y^*(\tau, f) d\tau \quad (2.8)$$

é o espetro de Wavelet cruzado entre dois sinais $x(t)$ e $y(t)$, onde δ é um escalar dependente da frequência. $W_x(\tau, f)$ e $W_y(\tau, f)$, são as transformadas de Wavelet de cada um. Esta última componente será o resultado da operação de convolução de um sinal, por exemplo $x(u)$, com a família Wavelet escolhida, sendo definida em função do tempo (τ) e frequência(f), por:

$$W_x(\tau, f) = \int_{-\infty}^{+\infty} x(u) \cdot \psi_{\tau,f}^*(u) du \quad (2.9)$$

A componente de magnitude da coerência de Wavelet corresponderá ao quadrado de $WCo(t, f)$, cujos valores irão variar entre 0 (indicando que as duas séries temporais não apresentam qualquer relação linear entre elas), e 1 (uma série temporal consegue prever a outra, de forma linear) [58]. A componente de fase, por sua vez, pode ser utilizada para estudar mudanças nos tempos de ativações entre regiões cerebrais, que são importantes para perceber como é esta interação dentro da rede neuronal, fornecendo ainda informações sobre a sequência de processos cognitivos na mesma [59]. Esta é obtida pelo argumento do espetro de Wavelet cruzado, $SW_{xy}(t, f)$.

A fase da coerência de Wavelet também pode ser utilizada para obter uma medida de *phase-locking*, que nos permite saber de que forma as diferenças de fase entre duas séries temporais variam ao longo de uma janela de tempo predefinida. Os resultados representarão a média de todos os valores obtidos nessa janela, cujos valores variam entre 0, quando a fase entre ambos os sinais variou significativamente, e 1, quando não houve qualquer variância da mesma.

Considerando x'_f e y'_f a coerência entre os sinais x e y na frequência f , e que para um tempo τ , a diferença de fase entre x'_f e y'_f , é dada pelo ângulo de $W_{y'f}(\tau) \cdot W_{x'f}^*(\tau)$, então o *phase-locking* (PL) será definido por [60]:

$$PL(f, t) = \left| \frac{1}{\delta} \int_{t-\delta/2}^{t+\delta/2} \frac{W_{y'f}(\tau)}{|W_{y'f}(\tau)|} \cdot \frac{W_{x'f}^*(\tau)}{|W_{x'f}(\tau)|} d\tau \right| \quad (2.10)$$

Quando se analisa um dado espectro de Wavelet é necessário ter em conta o "cone de influência", ou seja, a região que é afetada pela fronteira, onde os valores dos coeficientes de Wavelet não são de confiança já que se encontram influenciados por esta [61]. Este cone é definido pelo decaimento (*e-folding time*) do espectro Wavelet em cada escala.

2.3.2 Caracterização e medidas topológicas de redes de conectividade cerebral

O estudo da conectividade cerebral pode ser feito através de uma ampla gama de abordagens de análise de rede, muitas das quais, também são aplicadas em esforços paralelos para mapear e descrever outras redes biológicas, como por exemplo, a do metabolismo celular [47]. Recentemente, tem havido um crescimento exponencial de estudos relacionados com a aplicação da teoria de grafos, uma vez que permite a extração de medidas topológicas de redes complexas, revelando assim informações pertinentes sobre a organização global e local destas [62].

Os grafos são descrições matemáticas de um sistema composto por elementos interligados, que inclui um conjunto de conexões (arestas) e nós (vértices), que são a unidade funcional fundamental do sistema. No caso do cérebro, como é possível ver na figura 2.10, os nós irão corresponder às regiões cerebrais, e as arestas a conexões estruturais, funcionais ou efetivas. As regiões cerebrais são normalmente definidas através de esquemas de parcelação anatômica, como é exemplo o atlas AAL [63]. As arestas também podem ser diferenciadas dependendo da sua ponderação, como binárias (presença ou ausência de conexão) ou ponderadas (contém informação sobre a força da conexão), e da sua direcionalidade. Tendo em conta o objetivo desta tese, serão apenas consideradas as conexões funcionais, que representam associações/dependências estatísticas, e poderão ser estimadas através de diversas medidas, como as já mencionadas na secção 2.3.1.

Existe uma grande diversidade de medidas topológicas de grafos que se podem aplicar após a construção da rede cerebral. Sporns et al., distinguiram três classes amplas de medidas de grafos, e respetivas medidas mais relevantes, que capturam aspetos distintos da organização da rede cerebral [46]:

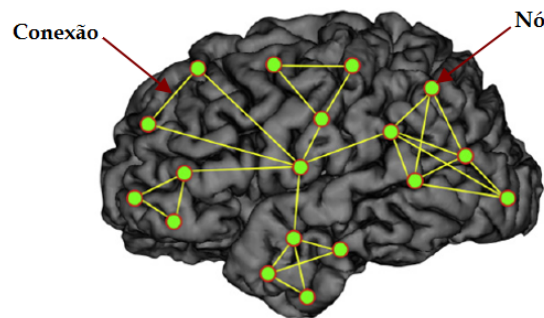


Figura 2.10: Representação da conetividade cerebral como um grafo. Os nós dizem respeito às regiões cerebrais, e as conexões às ligações entre duas regiões. Adaptado de [51].

1. **Segregação Funcional** - é a capacidade de ocorrer um processamento especializado, dentro de grupos densamente interligados de regiões cerebrais [50].
 - Coeficiente de *clustering*: é uma das medidas mais simples de calcular o grau em que os nós de uma rede formam agrupamentos locais, e é dado pela fração dos triângulos à volta do nó, ou seja, a fração dos nós vizinhos que são vizinhos uns com os outros [64].
 - Modularidade : medida estatística que descreve o quão bem uma rede se pode dividir em componentes separados (módulos) com alta conetividade interna, mas poucas conexões entre eles [65].
2. **Integração Funcional** - é a capacidade de combinar, de forma rápida, informações especializadas de regiões cerebrais distribuídas [50]. Este tipo de medidas, estimam a facilidade com que as regiões cerebrais comunicam entre si.
 - Comprimento do caminho característico: é o comprimento médio do caminho mais curto entre todos os pares de nós na rede. Estima o potencial de integração funcional entre áreas cerebrais.
 - Eficiência global: caracteriza o quão eficiente é a rede na integração de informação.
3. **Influência Funcional** – é o potencial impacto que diferentes elementos da rede têm no sistema como um todo, e a sua capacidade de transferir, ou processar, informações.
 - *Hubs*: caracterizam-se por terem um elevado grau do nó, e são considerados os nós mais influentes, isto é, possuem um elevado impacto em toda a rede e capacidade de transferir ou processar informação. A sua identificação em redes cerebrais pode ajudar a mapear as regiões do cérebro que são críticas para a coordenação de interações funcionais.

- **Centralidade:** caracterizam a importância de um nó em toda a rede cerebral, que é medida através da eliminação do mesmo, por forma a estimar a eficiência da rede onde este foi retirado [66]. Um nó com elevada centralidade torna-se essencial para uma comunicação eficiente na rede [67].

Outras medidas importantes, mas que não se enquadram nestas classes, são o grau do nó, dado pelo número de arestas conectadas a este, e a *small-world propensity*, que reflete a tendência da rede para exibir *small-worldness*, ou seja, uma configuração topológica que combina simultaneamente características de segregação e integração funcional, caracterizando-se por ter um coeficiente de *clustering* elevado e caminhos curtos [50].

Na figura 2.11 é possível observar graficamente alguns exemplos destas (e outras) medidas topológicas de grafos.

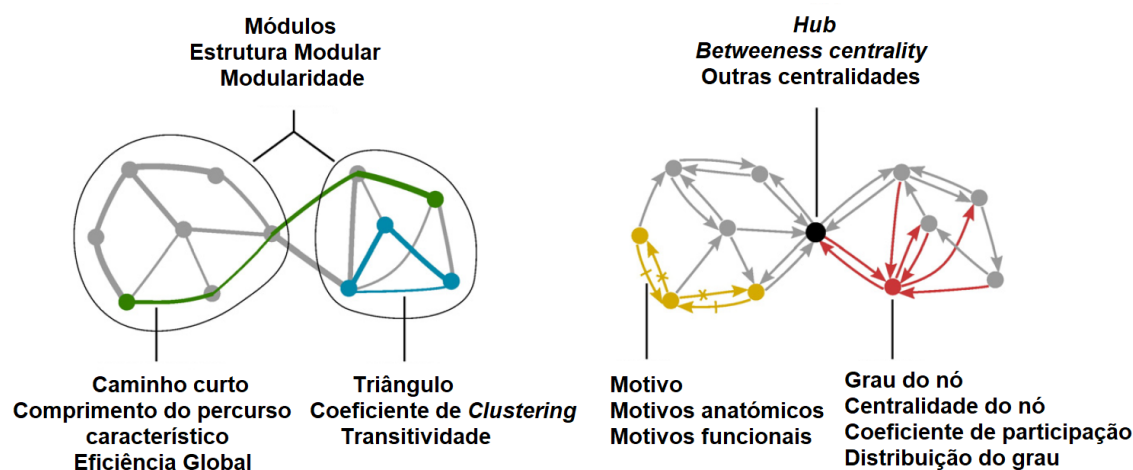


Figura 2.11: Ilustração de algumas medidas topológicas de grafos. As medidas de integração são baseadas em comprimentos do caminho curtos (a verde), enquanto que as medidas de segregação baseiam-se na maior parte das vezes em triângulos (a azul) mas também incluem a decomposição em módulos (forma oval). Medidas de centralidade podem ser baseadas no grau do nó (a vermelho) ou no tamanho e número dos caminhos mais curtos entre nós. Os *hub* (a preto) assentam muitas vezes num alto número de caminhos curtos. Padrões de conectividade local são quantificados por motivos de rede (a amarelo). Adaptado de [50].

2.3.2.1 Resultados da análise de medidas de grafos obtidos em teses anteriores

Relativamente aos resultados obtidos na tese cuja medida de conectividade foi o *phase-locking*, só se calculou o grau do nodo para o ensaio B e banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz [27].

Grau do nó: nos casos em que as tarefas de repouso eram superiores às de movimento, a maior parte das regiões com elevado grau do nodo localizavam-se no hemisfério esquerdo, salientando-se a região frontal inferior, juntamente a outras regiões do lobo occipital, temporal e frontal. Nas comparações inversas, e contrariamente às anteriores,

verificou-se que as regiões mais significantes eram encontradas no hemisfério direito, pelo que foi sugerido que na realização de movimentos por livre-arbítrio com a mão direita, ocorre uma perda de sincronização de fase no hemisfério esquerdo entre as regiões que mantinham uma comunicação no estado de repouso.

Quando a tarefa de movimento com estímulo apresentava maior *phase-locking* que a de movimento livre, verificou-se que a maior parte das regiões se localizava no córtex occipital, o que já era expectável pela localização do córtex visual, enquanto que na comparação oposta, a significância foi colocada sobre o córtex frontal, onde o cíngulo anterior foi uma das áreas de destaque.

Eficiência global: os únicos resultados significativos com esta medida envolveram a comparação onde a tarefa motora com estímulo visual teve menor eficiência global que o movimento livre. Tendo sido obtido um limite de 0.2 para uma maior eficiência global em toda a rede.

Na tese onde a magnitude foi utilizada como medida de conetividade, foram calculadas 4 medidas de grafos: grau do nó, eficiência global, modularidade e *small-world propensity*, segundo 3 bandas de frequência: 0.06-0.10 Hz, 0.07-0.13 Hz e 0.10-0.16 Hz [28]. Tendo em conta que no estudo presente só serão calculadas as medidas do grau do nó e eficiência global, só serão apresentados os resultados anteriores respetivos as estas duas métricas.

Grau do nó: verificou-se que a maior parte das regiões que apresentavam um elevado grau do nó nas comparações onde as tarefas de repouso eram mais coerentes que as tarefas de movimento (livre e com estímulo), encontravam-se no hemisfério esquerdo. As áreas que tiveram maior destaque nestas comparações foram: cíngulo (em particular, o cíngulo posterior esquerdo), precuneus direito, insula, tálamo e S1 esquerdos. Nas comparações onde as tarefas de movimento apresentavam maior magnitude que as de repouso, o precuneus direito foi uma das regiões de maior destaque.

Eficiência global: estes resultados revelaram uma maior eficiência global no movimento livre em comparação com as tarefas de repouso, obtendo-se um limite de 0.2 para uma máxima eficiência global na rede.

2.3.3 Redes de repouso e o papel das oscilações lentas

A grande maioria dos estudos existentes sobre o funcionamento do cérebro, consistem na medição da resposta neuronal a uma dada tarefa/estímulo, contudo, foi demonstrado que mesmo na ausência destes, ou seja, no estado de repouso, o cérebro encontra-se bastante ativo [68].

No ano de 1995, Biswal e os colegas foram os primeiros a demonstrar a existência de conetividade funcional no repouso, ao observar que as flutuações espontâneas do sinal BOLD de fMRI estavam correlacionadas entre regiões do córtex sensoriomotor (associadas ao movimento da mão), tanto entre ambos os hemisférios, como dentro de cada um [69]. Esta descoberta veio assim provar que a atividade BOLD espontânea não era meramente

ruído aleatório, levando a que estes resultados pioneiros fossem replicados por outros estudos, onde se verificou a existência de sub-redes fortemente ligadas funcionalmente no repouso, também designadas de “redes de estado de repouso” [70], [71], [72]. Apesar destes estudos terem utilizado diferentes métodos, mostraram uma grande sobreposição entre os seus resultados, aumentando assim a robustez destas redes.

Até à data, e como é possível observar na figura 2.12, foram identificadas 8 destas redes: a rede motora primária, as redes visuais primária e extra-estriada, uma rede composta pelas regiões bilaterais temporais/insulares e o córtex anterior cingulado, do inglês, *Anterior Cingulate Cortex* (ACC), duas redes lateralizadas (esquerda e direita) constituídas pelas regiões parietal e frontal superior, a rede frontal e a conhecida *Default Mode Network* (DMN), que consiste nas regiões temporal, parietal inferior, frontal medial e precuneus [68], [70], [71], [73], [74], [75], [76].

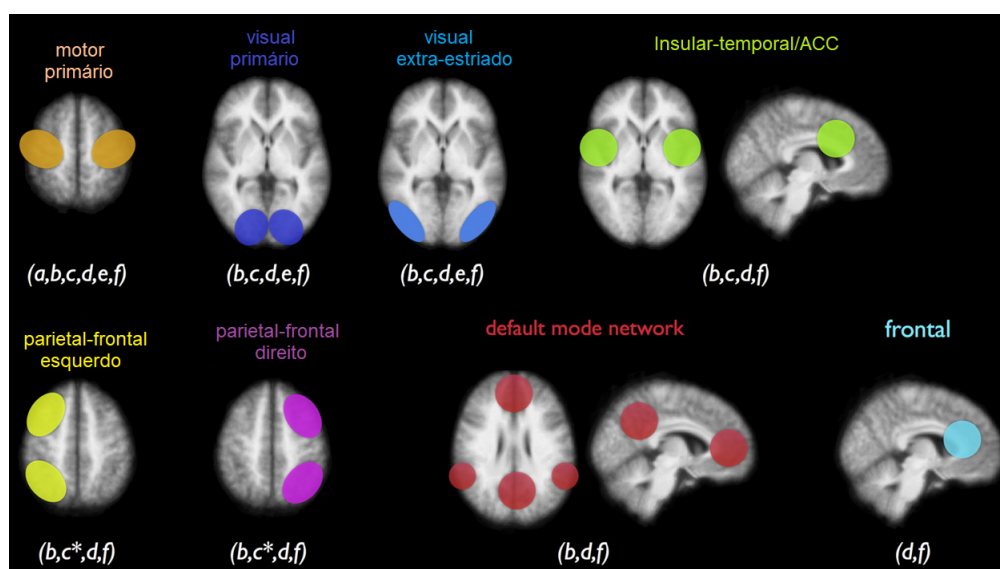


Figura 2.12: Exemplificação das 8 redes de repouso: motor primária, visual primária e extra-estriado, insular-temporal/ACC, parietal-frontal (esquerdo e direito), DMN e frontal, que foram identificadas nos estudos - (a) [69], (b) [70], (c) [74], (d) [71], (e) [75] e (f) [76]. Adaptado de [51].

Contrariamente às outras redes, a DMN apresenta uma redução na sua atividade neuronal na realização de tarefas, sugerindo assim, a existência de um modo padrão de linha de base da função cerebral, que é interrompido quando não se está em repouso [77]. Uma exceção a esta desativação quando se deixa de estar em repouso, ocorre na presença de processos cognitivos mais complexos, que requerem memória de trabalho, ou pensamentos autorreferenciados, onde apenas algumas regiões desta rede são desativadas [62]. Tendo em conta que a atividade e a conectividade estão ligadas a processos centrais da cognição humana, onde se inclui a integração de processamentos cognitivos e emocionais [78], e a monitorização do mundo à nossa volta [79], levantou o interesse de estudos de doenças neurológicas e psiquiátricas, onde ocorre uma alteração da funcionalidade da DMN, como é o caso da esquizofrenia [51], [80].

Todas estas investigações sobre o estado de repouso do cérebro têm revelado que a gama de frequências dominantes nas oscilações BOLD encontra-se entre 0.01 e 0.1 Hz [69]. Tais oscilações com frequências de interesse próximas de 0.1 Hz também podem ser encontradas em diferentes regiões cerebrais e outros sinais fisiológicos, como por exemplo: na disponibilidade de oxigénio no tecido cortical [81], alterações na Hb no córtex occipital [82], frequência cardíaca [83], flutuações de EEG [84] e pressão sanguínea [85]. No entanto, a verdadeira origem destas oscilações lentas ainda não foi totalmente compreendida.

Diversos estudos defendem que estas resultam de processos fisiológicos, como os ritmos cardiovasculares, respiratórios e de pressão sanguínea [86], [87]. Relativamente às flutuações da pressão sanguínea, também designadas por ondas Mayer, sabe-se que estas estão associadas com a atividade do sistema nervoso simpático. Quanto à sua origem, alguns estudos defendem que estas ondas resultam da atividade de um oscilador endógeno localizado no tronco encefálico ou na medula espinhal, já outros sugerem que este reflete o desencadeamento de perturbações da componente simpática do reflexo baroreceptor.

Outra possível fonte para as oscilações lentas vem de estudos que afirmam que a sua origem provém da co-ativação de padrões de ativação neuronal espontânea das regiões destas redes (referidas acima), medidos através da HRF [78], [88]. Foi observado que a maioria destes padrões no repouso tendem a ocorrer entre regiões cerebrais que se sobrepõem em função e neuroanatomia, como é o caso de regiões das redes motora, visual e auditiva [69], [71], [74], [76]. Evidências adicionais a esta hipótese neuronal surgiu de estudos que comprovaram a existência de uma associação (indireta) entre a amplitude de dados de repouso de fMRI e dados eletrofisiológicos de disparos neuronais [89].

Uma questão interessante que surge da análise de oscilações lentas é se estas podem ser relacionadas com intenção para realizar uma ação. Num estudo realizado em 2012 por Pfurtscheler et al., foi dada a primeira evidência de que a intenção de realizar um movimento voluntário em qualquer momento, neste caso, flexão do indicador em livre-arbítrio, poderia estar relacionado com a dinâmica das variáveis hemodinâmicas [7]. Estas, por sua vez, podem ser apoiadas pelo cruzamento de redes responsáveis pelo início de movimentos voluntários e controlo de variáveis cardiovasculares. Acrescentando a isto, resultados anteriores já tinham mostrado que a iniciação de movimentos voluntários, que ocorre em intervalos relativamente constantes de 10 s, estavam relacionados temporalmente com oscilações lentas da pressão sanguínea autónoma (ondas Mayer) do cérebro em repouso [90]. Tendo em conta todas estas evidências apresentadas sobre as oscilações com frequências entre 0.01 e 0.1 Hz, o principal foco deste estudo será feito segundo as mesmas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo serão apresentados todos os procedimentos realizados, que levaram à obtenção dos resultados neste estudo. Inicialmente, serão descritos os participantes e protocolo experimental, assim como todo o pré-processamento que já foi realizado previamente, no contexto de outras teses. Em seguida, serão descritas as duas principais metodologias implementadas com base na análise da coerência de Wavelet, e por fim, será dado um resumo das funcionalidades do *software* utilizado, o GraphVar e a respectiva aplicação.

3.1 Participantes e Protocolo Experimental

Os dados de fMRI que serão utilizados nesta tese foram disponibilizados através de uma colaboração com a Universidade Técnica de Graz, na Áustria, onde 25 indivíduos saudáveis (12 deles mulheres), com idades compreendidas entre os 19 e os 34 anos (média \pm desvio padrão: 24.0 ± 3.2 anos), foram estudados através de ensaios baseados em fMRI, de acordo com a World Medical Association Declaration of Helsinki. Todos os sujeitos eram destros, conforme determinado pelo Edinburgh Handedness Inventory, e deram o seu consentimento por escrito, antes da sua participação no estudo. No entanto, nenhuma informação lhes foi fornecida sobre o propósito do mesmo. Para além disso, possuíam visão normal e nenhum tinha historial de distúrbios psiquiátricos, ou neurológicos, nem nunca tinham sido submetidos a um exame de MRI. Cada indivíduo foi examinado duas vezes (o primeiro ensaio designou-se por A, e o segundo, por B), no mesmo dia, mas com um intervalo de uma hora entre sessões. Para além da obtenção dos dados de fMRI, foi feita, simultaneamente, a aquisição de um Eletrocardiograma (ECG) e do sinal respiratório.

O protocolo experimental consistiu em 2 tarefas de repouso (REST1 e REST2), e 2 de movimento (SELF e VISUAL), que se realizaram pela seguinte ordem [4]:

REST1: os sujeitos foram solicitados a ficar em repouso por 5 minutos, com os olhos abertos, evitando adormecer e realizar qualquer movimento.

SELF: depois de uma breve pausa, ocorreu um período de varredura de 10 minutos, onde os sujeitos foram instruídos a pressionar um botão com o dedo indicador direito, sempre que sentissem vontade de o fazer. Neste passo, não houve qualquer treino prévio, nem dada nenhuma sugestão sobre a frequência ou padrão da ação, de modo a que as condições fossem favoráveis à expressão de livre-arbítrio.

VISUAL: nesta segunda tarefa de movimento, que tal como a primeira teve uma duração de 10 minutos, os sujeitos foram instruídos a pressionar o mesmo botão sempre que um estímulo visual periódico (período de 10 s) fosse apresentado. A indução do estímulo com a mesma frequência dos sinais BOLD que queremos estudar, foi uma escolha consciente - um processo chamado *entrainment*, onde um meio como por exemplo, um som pulsante, uma luz, ou um campo eletromagnético, é usado para estimular o cérebro a entrar num estado específico [91]: neste caso, a sugestão visual provocou uma resposta que levou as ondas cerebrais a alinhar a sua frequência para 0.1 Hz.

REST2: o ensaio terminou com uma segunda sessão de repouso de 5 minutos, onde era necessário respeitar as mesmas indicações impostas na primeira.

3.2 Aquisição e Pré-processamento dos dados

Dados de fMRI

As imagens funcionais foram obtidas num *scanner* de 3.0-T (Magnetom Skyra, Siemens). Foi aplicada uma sequência de imagem eco-planar, do inglês: *Echo-planar Imaging* (EPI), multibanda, com um fator de multibanda igual a 6, cujas características são as seguintes: tamanho do voxel = $2 \times 2 \times 2$ mm³, TR/TE = 871/31 ms, *flip angle* = 52°, matriz de 90×104 , 66 fatias axiais contíguas e FOV = 180.208 mm². Para as sessões de estado de repouso, e tarefas de movimento, de cada aquisição, foram adquiridos 400 e 650 volumes, respetivamente.

O pré-processamento dos dados, já realizado anteriormente no contexto de outra tese, foi feito através da utilização da *toolbox* DPARSF [92], e consistiu na correção do tempo de corte, correção do movimento, normalização para o espaço MNI utilizando as imagens T1, reamostragem para voxels isotrópicos de 2mm, suavização espacial com um kernel gaussiano FWHM de 4mm e *linear detrending*.

Com o intuito de assegurar a estabilidade do sinal, excluíram-se os primeiros 10 volumes (as fases de repouso são agora compostas por 390 volumes cada, e as de movimento por 640 cada). Por fim, e utilizando mais uma vez a *toolbox* DPARSF, foram extraídos os cursos de tempo BOLD de acordo com a especificidade das 116 regiões consideradas pelo Atlas AAL [63]. Por sugestão da equipa da Universidade de Graz, foi excluído o cerebelo destas 116 áreas cerebrais, pelo que só serão consideradas as primeiras 90 regiões do mesmo.

Dados fisiológicos

A aquisição simultânea de um ECG foi feita dentro do *scanner* utilizando a Physiological ECG Unit da Siemens. O posicionamento dos elétrodos de ECG no tórax foi conseguido através dos canais *standard* (Siemens Standard, lead 1). A taxa de amostragem utilizada foi de 400 Hz. A detecção do complexo QRS foi conseguida através do *plug-in* FMRI para a *toolbox* EEGLAB [93]. Com esta ferramenta, utilizou-se em sucessão os algoritmos de detecção de QRS e FASTR (remoção de artefactos induzidos pelos gradientes) para a obtenção dos cursos de tempo do intervalo entre batidas cardíacas. Estes, por sua vez, foram interpolados à mesma frequência de amostragem das aquisições BOLD ($1/871 \text{ ms}^{-1}$)

3.3 Metodologia 1: Análise da coerência de Wavelet

As séries de tempo BOLD, previamente adquiridas e pré-processadas, começaram então por ser analisadas no domínio tempo-frequência, através da coerência da transformada de Wavelet. Esta análise baseou-se no cálculo de 3 medidas: magnitude, fase e *phase locking*, pela utilização de funções da *toolbox* "*Cross wavelet and wavelet coherence*" [94], implementada no Matlab.

Inicialmente, e com o objetivo de se perceber melhor o resultado gráfico da aplicação da coerência de Wavelet aos dados deste estudo, foi desenvolvida uma interface em Matlab que possibilita ao utilizador escolher quais os sinais em que pretende aplicar esta análise. A interação com esta ferramenta, como é possível ver na figura 3.1, começa pela seleção dos 2 sinais a serem utilizados, onde se terá de predefinir: as regiões cerebrais (de entre as 90 do atlas AAL), a tarefa (de entre REST1, REST2, SELF e VISUAL), o ensaio (A ou B), e por fim, os sujeitos (1 a 25) de interesse. Assim que é pressionado o botão "*Wavelet Coherence*", serão apresentadas as séries temporais BOLD de cada sinal (em cima), assim como o respetivo mapa de coerência (magnitude e fase) e transformadas contínuas de Wavelet (em baixo).

O passo seguinte consistiu no desenvolvimento de rotinas (também em Matlab), para a obtenção de matrizes de conectividade funcional, baseadas nas 3 medidas pretendidas. No caso do *phase-locking* era necessário seleccionar *a priori* o tamanho da janela em que será feita a integração na equação 2.10, pelo que foi escolhido um *kernel* com tamanho 2 (número de períodos), ou seja, correspondendo a uma janela temporal de 20 s para um sinal com um período de 10 s, por exemplo. O cálculo destas 3 medidas foi baseado em 32 regiões de interesse e 3 bandas de frequência:

- **Regiões cerebrais de interesse:** a escolha das regiões cerebrais foi feita com base em diversas áreas e circuitos neuronais, registados na literatura como envolvidos na execução de movimentos voluntários. Como já foi referido no capítulo 2, duas das áreas largamente documentadas são a SMA e o M1, pelo que obrigatoriamente teriam de ser incluídas nesta lista [2], [26]. Diversos estudos também têm mostrado o envolvimento de estruturas sub-corticais em circuitos associados a este tipo de

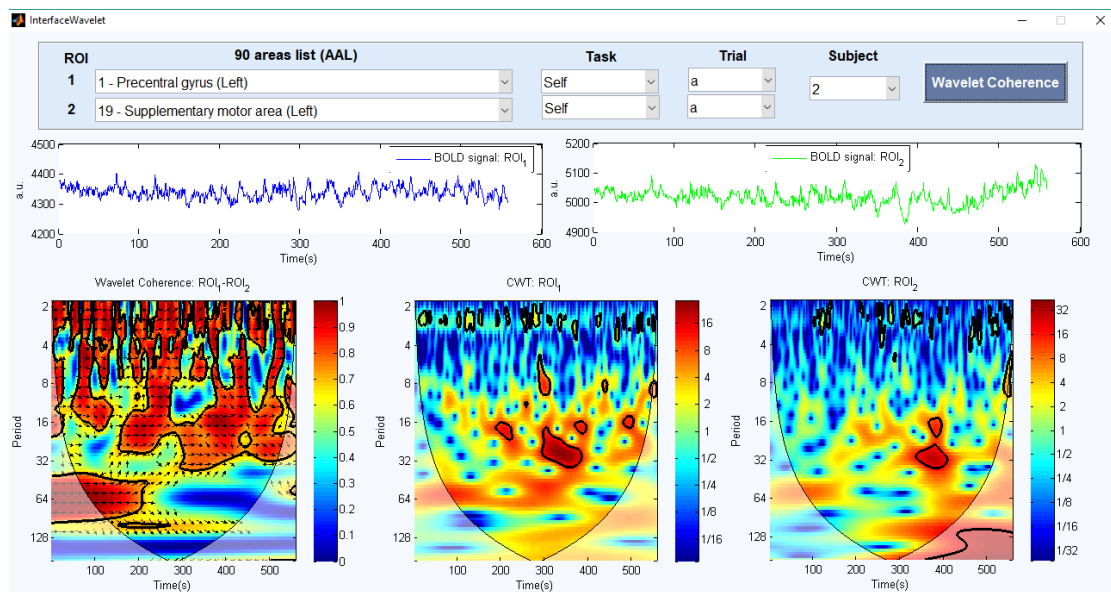


Figura 3.1: Ilustração da interface desenvolvida para análise da coerência de Wavelet. A interação com esta ferramenta, começa pela seleção dos 2 sinais a serem utilizados, onde se terá de predefinir: as regiões cerebrais (de entre as 90 do atlas AAL), a tarefa (de entre REST1, REST2, SELF e VISUAL), o ensaio (A ou B) e o sujeito (1 a 25) de interesse. Ao pressionar o botão "Wavelet Coherence", serão apresentadas as séries temporais BOLD de cada sinal (em cima), assim como o respetivo mapa de coerência (em baixo, imagem da esquerda) e transformadas contínuas de Wavelet (em baixo, 2 imagens mais à direita).

movimentos, como os gânglios basais, onde se incluem as partes: núcleo caudado, putâmen e globo pálido [95], [96]. Mais recentemente, tem sido demonstrado o papel do tálamo na preparação dos mesmos [96], e da insula, quanto à intenção de os iniciar [4]. Áreas do lobo parietal como a parte superior e inferior, também se têm mostrado ativas aquando a realização destes movimentos. O córtex cingulado é outra das áreas bastante relatadas na preparação e iniciação de movimentos em livre arbítrio[10].

Tendo em conta que serão analisados dados com base nas tarefas do VISUAL, e do REST1/2, foram incluídas áreas como o calcarino e o precuneus, respetivamente. Esta última, para além de fazer parte da DMN como descrito no capítulo 2, existem evidências do seu papel na preparação de ações voluntárias [23]. Uma área que também tem demonstrado um grande papel é a parte inferior do lobo frontal, mais especificamente a parte opercular [95], [97]. Na tabela 3.1 encontra-se a lista das 32 regiões cerebrais seleccionadas.

- **Bandas de frequência:** uma vez que a análise pretendida será focada nas oscilações lentas (<0.1 Hz), foram escolhidas 3 bandas de frequência:

1. 0.01-0.027 Hz
2. 0.027-0.073 Hz

Tabela 3.1: Lista das 32 regiões cerebrais do hemisfério direito (HD) e hemisfério esquerdo (HE), que serão utilizadas nesta tese.

Regiões Cerebrais		Nº da Região no atlas AAL
Região Central	M1 (HE)	1
	M1 (HD)	2
	S1 (HE)	57
	S1 (HD)	58
Lobo Frontal	Frontal Inferior Opercular (HE)	11
	Frontal Inferior Opercular (HD)	12
	SMA (HE)	19
	SMA (HD)	20
Lobo Temporal	Cíngulo Anterior (HE)	31
	Cíngulo Anterior (HD)	32
	Cíngulo Medial (HE)	33
	Cíngulo Medial (HD)	34
	Cíngulo Posterior (HE)	35
	Cíngulo Posterior (HD)	36
Lobo Occipital	Calcarino (HE)	43
	Calcarino (HD)	44
Lobo Parietal	Parietal Superior (HE)	59
	Parietal Superior (HD)	60
	Parietal Inferior (HE)	61
	Parietal Inferior (HD)	62
	Precuneus (HE)	67
	Precuneus (HD)	68
Núcleos cinzentos sub-corticais	Núcleo caudado (HE)	71
	Núcleo caudado (HD)	72
	Putâmen (HE)	73
	Putâmen (HD)	74
	Globo pálido (HE)	75
	Globo pálido (HD)	76
	Tálamo (HE)	77
	Tálamo (HD)	78
Insula	Insula (HE)	29
	Insula (HD)	30

3. 0.07-0.13 Hz

Esta seleção foi feita tendo em conta a predominância destas frequências nos sinais BOLD de fMRI, no estado em repouso [51]. A separação desta gama de frequências em 3 bandas diferentes foi feita anteriormente, por estudos eletrofisiológicos, em que foi designada a banda 1. como *slow 5*, a 2. como *slow 4* e a 3. como *slow 3* [98], [99]. No entanto esta última banda engloba apenas parte da *slow 3*, visto que esta considera as frequências entre 0.073 e 0.198 Hz. A razão pela qual se irão analisar 3 bandas de frequências diferentes, baseia-se no facto de estudos, como o de Gohel e

Biswal [100], que demonstram que a integração funcional entre regiões cerebrais no repouso ocorre em diversas bandas de frequência, fazendo com que a conectividade funcional no repouso seja considerada um fenômeno multibanda.

3.4 Metodologia 2: Extração dos pontos localizados no tempo

Tendo em conta o objetivo principal desta tese, onde se pretende fazer uma análise localizada no tempo da coerência de Wavelet, foi preciso desenvolver um critério que nos permitisse distinguir entre pontos temporais considerados como “Movimento” e “Não Movimento” nas tarefas SELF e VISUAL, por forma a obter as matrizes de coerência nos mesmos.

O critério implementado baseou-se na convolução entre uma função de apresentação do estímulo (em que no caso do SELF os estímulos seriam as pressões dos botões em livre-arbítrio, e no VISUAL, o estímulo visual) e uma HRF canónica. Para a função de apresentação do estímulo foi criado um vetor de 0's e 1's, em que 0 significaria a ausência de estímulo, e 1 a sua presença. A HRF canónica foi obtida através de uma função da *toolbox Statistical Parametric Mapping* (SPM), em que é considerada como a combinação linear de 2 funções gama [6]:

$$h(t) = \frac{t^{\alpha_1-1} \beta_1^{\alpha_1} e^{-\beta_1 t}}{\Gamma(\alpha_1)} c \frac{t^{\alpha_2-1} \beta_2^{\alpha_2} e^{-\beta_2 t}}{\Gamma(\alpha_2)} \quad (3.1)$$

onde $\alpha_1=6$, $\alpha_2=16$, $\beta_1 = \beta_2=1$, $c=1/6$, e Γ , a função gama.

Depois de obtidas estas duas funções, normalizou-se a HRF canónica (divisão pelo valor máximo), e por fim, foi aplicada a operação de convolução, através do comando *conv* do Matlab. No entanto, foi necessário corrigir um atraso temporal de 16 s entre a apresentação do estímulo e o começo da HRF, provocado pela aplicação deste comando.

O passo seguinte consistiu em selecionar um limite superior e inferior, que pudesse classificar os pontos temporais como “Movimento” (caso o respetivo valor de convolução fosse igual ou superior a esse limite), e “Não Movimento” (caso o respetivo valor de convolução fosse igual ou inferior a esse limite). Para a escolha desses limites foi obtido o histograma cumulativo dos valores de convolução em que se considerou um percentil empírico de 30%, ou seja, o limite inferior era o valor máximo de convolução correspondente a 30% dos valores mais baixos, enquanto que o limite superior era o valor mínimo correspondente a 30% dos valores mais elevados.

A seleção deste percentil foi feita com base no número de pontos que se obtinham em 3 classes, onde a primeira correspondia aos pontos considerados como "Movimento", a segunda como "Não Movimento" e a terceira aos pontos que não se enquadravam em nenhuma das 2 classes anteriores. Foi então obtido o número de pontos nas 3 classes para 9 percentis diferentes, de 5 a 45%, com um intervalo de 5% entre cada um. Optou-se pelo percentil de 30% visto que permitia um melhor equilíbrio entre discriminação e obtenção de um número suficiente de pontos nas 3 classes. Na figura 3.2, é possível

3.4. METODOLOGIA 2: EXTRAÇÃO DOS PONTOS LOCALIZADOS NO TEMPO

observar graficamente os procedimentos aplicados segundo este critério, com base num exemplo específico.

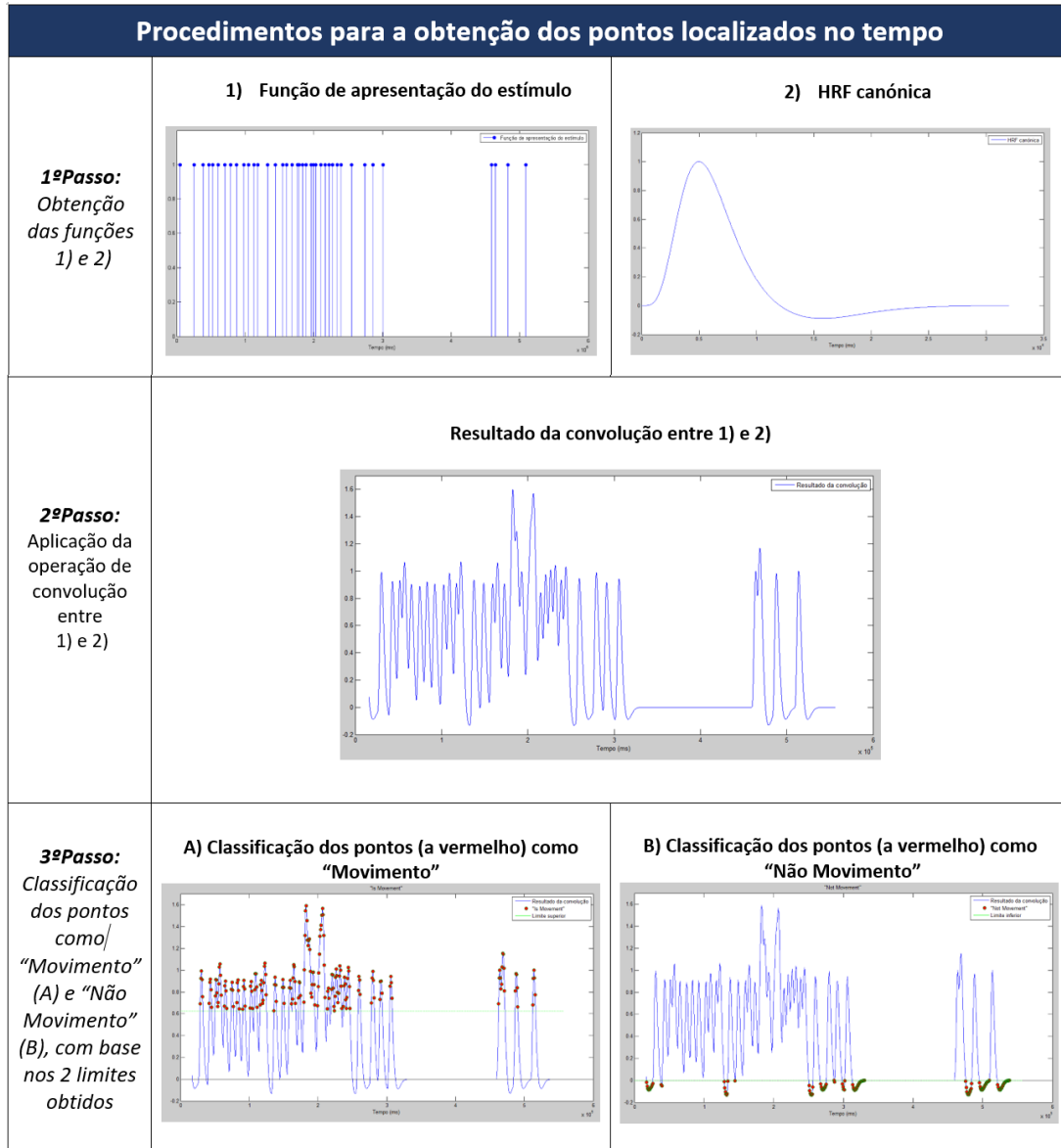


Figura 3.2: Procedimentos realizados para a obtenção dos pontos localizados no tempo, com base no critério implementado. Os resultados presentes nesta figura correspondem ao sujeito 21, ensaio A e tarefa SELF.

Por fim, foram obtidas as matrizes de conectividade com base nesses pontos selecionados pelo critério. É de salientar que a classificação dos pontos como "Não Movimento" e "Movimento" foi somente aplicada à tarefa SELF, tendo em conta o objetivo deste estudo. Relativamente à tarefa VISUAL só foram considerados os pontos "Movimento". No caso das tarefas de repouso REST1 e REST2, o critério de seleção dos pontos foi feito com base no número de pontos dados como "Movimento" no SELF, onde se extraiu aproximadamente a mesma quantidade de pontos das séries temporais em repouso, com a mesma

distância entre eles.

Todas as matrizes de conectividade que estejam incluídas no cone de influência (região afetada por efeitos de borda, cujos valores não são de confiança [61]), seja parcial ou totalmente, não serão consideradas na análise.

Relativamente ao critério de classificação dos pontos temporais como "Movimento" e "Não Movimento", foi implementado um segundo critério, apesar de não ter sido utilizado tendo em conta as suas desvantagens em relação ao critério escolhido. Este critério alternativo baseava-se no número de movimentos que eram encontrados numa janela de tempo: se o número de movimentos incluídos nessa janela fosse igual ou superior a um certo valor, seria considerado como "Movimento"; se o número de movimentos fosse igual ou inferior a outro valor, então consideraríamos "Não Movimento".

Comparativamente ao critério escolhido para a análise, verifica-se que este apresenta duas grandes limitações: a escolha de uma janela temporal, ao contrário de pontos isolados; e ter de se predefinir à partida 2 valores limite de movimentos, o que poderia levar à redução do número de resultados obtidos. No entanto, e tendo em conta que esta alternativa chegou a ser implementada na prática, decidiu-se desenvolver uma interface com base nestes dois critérios, onde o utilizador poderia escolher qual dos dois aplicar. Foi ainda acrescentada outra opção, que possibilita a obtenção das matrizes de conectividade em pontos aleatórios no tempo, escolhidos pelo utilizador. Como é possível ver na figura 3.3, para além da escolha do critério de interesse, é possível escolher quais os sujeitos, ensaio e regiões cerebrais em que se pretende aplicar a análise. Juntamente a isso, o utilizador terá de selecionar qual a banda de frequência e a medida da coerência de Wavelet que deseja. A opção "default" do critério de convolução, considera o percentil de 30% que foi utilizado para obter os resultados nesta tese.

3.5 Aplicação da *toolbox* GraphVar

3.5.1 Resumo geral e descrição das funcionalidades

Para a obtenção dos resultados pretendidos, foi utilizada uma *toolbox* denominada GraphVar (versão 1.02 Turbo GLM). Esta ferramenta, como é possível observar na figura 3.4, é uma interface gráfica *user-friendly*, que permite uma vasta análise de grafos da conectividade funcional cerebral e a exploração interativa de resultados estatísticos. Possibilita ainda a construção de redes e a caracterização das respetivas propriedades através de medidas topológicas da teoria de grafos, para análises estatísticas da comunicação neuronal.

Por ser composta por uma diversidade de rotinas e *toolboxes*, como por exemplo: *Brain Connectivity Toolbox* (BCT) [50], *Graph Analysis Toolbox* (GAT) [101] e *Network Based Statistical Toolbox* (NBS) [102], permite utilizar diferentes implementações, dependendo do objetivo pretendido. Tal como demonstrado na figura 3.5, existem duas vias de análise



Figura 3.3: Ilustração da interface desenvolvida para a obtenção das matrizes de coerência de Wavelet localizadas no tempo. O utilizador tem a possibilidade de escolher qual o critério de interesse, os sujeitos, ensaio e regiões cerebrais em que se pretende aplicar a análise. Juntamente a isso, terá de selecionar qual a banda de frequência e a medida da coerência de Wavelet que deseja. A opção "default" do critério de convolução, considera o percentil de 30% que foi utilizado para obter os resultados nesta tese.

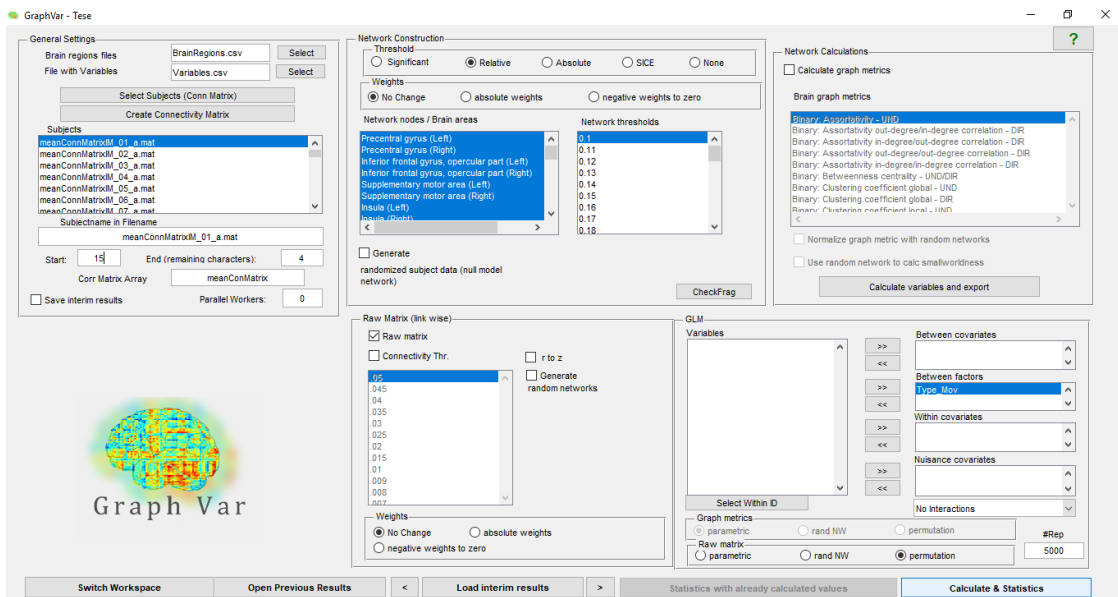


Figura 3.4: Ilustração da interface do GraphVar.

distintas: a construção de redes de grafos para posterior obtenção das respetivas medidas topológicas, ou a análise estatística direta das matrizes de conectividade.

Este software corre no MATLAB (MathWorks, Inc.), e aceita como dados de entrada matrizes quadradas ($n \times n$), em formato .mat, que contenham informação sobre a conectividade entre os nós da rede. No entanto, e apesar desta funcionalidade não ter sido aplicada

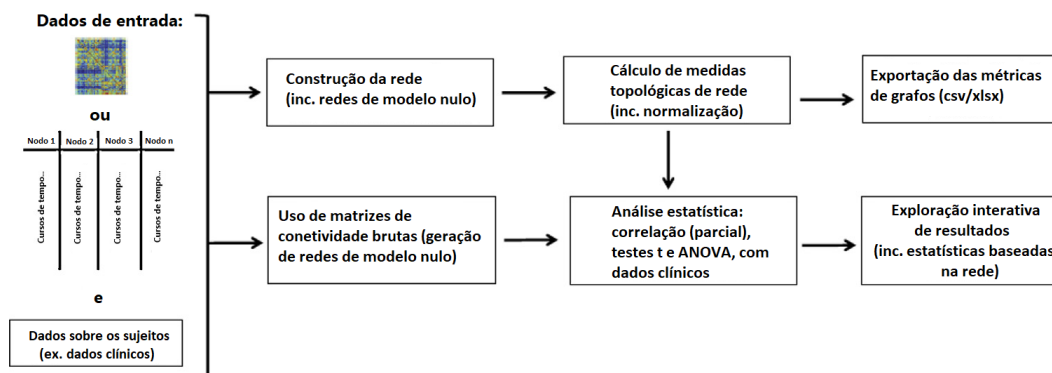


Figura 3.5: Esquemático do fluxo de trabalho do GraphVar. As duas vias de análise possíveis são: a construção de redes de grafos para posterior obtenção das respectivas medidas topológicas; e a análise estatística direta das matrizes de conectividade. Adaptado de [103].

nesta tese, uma vez que as matrizes de conectividade foram obtidas a partir de outros métodos (já descritos em cima), também tem a capacidade de gerar matrizes de conectividade baseadas na correlação de Pearson, correlação parcial, correlação de spearman, *percentage bend correlation* ou informação mútua de séries temporais de entrada.

3.5.1.1 Raw matrix

Depois de obtidas as matrizes de conectividade é possível fazer uma análise estatística sobre essas mesmas matrizes. Para isso, é necessário ativar o painel “*Raw matrix (link wise)*” da interface, selecionando a opção “*Raw matrix*”. Se as matrizes de conectividade envolverem correlações (r), é aconselhável transformar os valores de correlação em valores de z , utilizando a opção “*r to z*”, que faz a transformação r para z de Fisher, já que a distribuição não é Gaussiana.

Caso se pretenda restringir a análise a *links* que sejam significativos em primeiro lugar, deve-se escolher o limite pretendido na opção “*Connectivity Thr*”. Para além disso, também é possível escolher que tipo de ponderação é aplicada às conexões (valores de conectividade): nenhuma alteração; utilizar valor absoluto; ou considerar os valores negativos como zero.

3.5.1.2 Construção e cálculo da rede

A construção das redes de grafos no painel “*Network Construction*” começa pela seleção das regiões cerebrais de interesse e do tipo de limite a ser aplicado: significativo, relativo, absoluto, *Sparse Inverse Covariance Estimation* (SICE), ou nenhum. O limite significativo está relacionado com os valores de p -value não paramétricos que são obtidos na criação de séries temporais aleatórias. O limite relativo irá limitar a matriz de associação numa forma proporcional, ou sejam se for escolhido um limite de 0.1, por exemplo, isto significa que somente 10% das conexões mais fortes é que serão consideradas na análise. O limite absoluto irá definir o valor mínimo apresentado de conexões entre 2 nós, isto é, se for

escolhido um limite de 0.1, implica que todos os valores de conectividade abaixo desse valor não serão tidos em conta. O limite SICE, apesar de não ser dos métodos de limitação mais comuns, permite a construção de grafos binários com densidades predefinidas[104].

No painel "*Network calculation*", estão listadas a maior parte das medidas topológicas de grafos implementadas na BCT, permitindo o cálculo e extração destas na forma binária ou ponderada, e direcionada ou não direcionada. Acrescentando a isto, é ainda possível realizar a normalização destas medidas através de uma divisão com a média do respetivo modelo nulo.

3.5.1.3 Análise Estatística: GLM

Para a análise estatística sobre as matrizes de conectividade, ou medidas topológicas das redes cerebrais, o GraphVar tem como base o modelo linear generalizado GLM. Neste modelo, é possível selecionar as covariáveis (variáveis contínuas) de interesse em "*Between covariates*" que irão levar à estimativa dos coeficientes de regressão, em relação às variáveis dependentes. Antes da análise, estas covariáveis serão descorrelacionadas por forma a eliminar a colinearidade com o valor médio (*intercept*). Se se pretender estimar os efeitos de variáveis categóricas, médias de grupos individuais e diferenças emparelhadas entre grupos, as variáveis do modelo terão de ser introduzidas em "*Between factors*". Isto irá permitir realizar comparações entre dois grupos, *2 sample t-test*, ou mais do que 2 grupos, ANOVA. As "*nuisance covariates*" são variáveis que serão eliminadas das variáveis dependentes, antes de qualquer análise. Caso se pretenda fazer uma análise com medidas repetidas em dois pontos temporais, as variáveis terão de ser introduzidas em "*within covariates*" por forma a estimar os coeficientes de regressão. A opção "*within_ID*" permitirá associar as variáveis (por exemplo, os sujeitos), que terão medidas repetidas. Para além disto, ainda é possível aplicar interações, ou seja, encontrar diferenças nos pesos de regressão, entre variáveis categóricas (1ª ordem), contínuas (2ª ordem), ou variáveis categóricas e contínuas (3ª ordem).

O GraphVar permite ainda a aplicação de testes paramétricos, onde se assume que os dados são normalmente distribuídos, e não paramétricos, onde esta assunção não é requerida. Como testes paramétricos temos por exemplo o *t-test* e ANOVA, que permitem comparar 2 ou mais grupos, respetivamente, com base nas médias de cada população. Relativamente aos testes não paramétricos, existe dois tipos diferentes: teste do modelo nulo ao nível da rede ("*rand NW*") e ao nível da métrica ("*permutation*"). Para a comparação de grupos, utilizam-se os testes de permutação com um certo número de repetições escolhidas pelo utilizador, onde em cada repetição, as medidas da rede de cada sujeito serão aleatoriamente reatribuídas para um dos grupos, de maneira a que cada grupo aleatório obtenha o mesmo número de sujeitos que os grupos originais. Em seguida, as diferenças entre grupos nas medidas da rede serão colocadas numa distribuição de permutação, onde um *p-value* será calculado com base na posição do percentil. Alguns exemplos de testes não paramétricos são o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (correspondente ao 2

sample t-test) e o teste de Kruskal-Wallis por postos (correspondente à ANOVA).

3.5.2 Aplicação da análise pretendida

Uma vez que se pretende estudar as diferenças entre o SELF e as restantes 3 tarefas, a utilização do GraphVar consistiu essencialmente na comparação entre as mesmas. No entanto, e depois de analisadas todas as funções da interface, acabou por se verificar que este programa não tinha a capacidade de fazer a análise estatística que era pretendida, já que não aceita mais do que 1 matriz por sujeito e tarefa. A impossibilidade de realizar esta análise com base nas diversas matrizes que tinham sido obtidas, foi confirmada por comunicação pessoal com o próprio autor principal do programa, Johann Kruschwitz do Charité – Universitätsmedizin, em Berlim. Uma vez que se pretendia calcular numa 2ª fase as métricas de grafos para os mesmo dados, foi mantida a decisão de utilizar este *software* para a obtenção dos resultados, contudo, as matrizes de conectividade tiveram de ser alteradas.

Tendo em conta que a análise desejada passava pela implementação de um modelo GLM misto a dois níveis (*mixed-effects GLM model* [6]), aplicou-se no primeiro nível a equação 2.3, que irá permitir obter os parâmetros estimados para cada indivíduo, ou seja, as médias de todas as matrizes, como explicado na secção 2.2.1, do capítulo 2. Em seguida, e tendo agora uma matriz para cada indivíduo e tarefa, utilizou-se cada uma dessas matrizes como dados de entrada no GraphVar, onde este terá a capacidade de fazer a análise do segundo nível. Essencialmente, o que o programa faz é aplicar a equação 2.4 (secção 2.2.1, do capítulo 2) a cada grupo, neste caso, cada tarefa, utilizando um contraste $c = [1 \ -1]$, para a obtenção das comparações entre as tarefas de interesse.

Relativamente aos sujeitos que serão incluídos nesta etapa, nem todos farão parte, devido ao critério utilizado para classificar como "Movimento" e "Não Movimento". Sendo assim, só serão utilizados os sujeitos cujos números de pressões do botão foram superiores a 5, e inferiores a 1000. Com base nisto, excluíram-se os sujeitos 10, 20 e 23, por terem menos de 5 movimentos, e o 13, por ter mais de 1000.

Nesta análise da comparação entre tarefas considerou-se as 32 regiões de interesse já definidas previamente, 3 medidas de coerência e 3 bandas de frequência. Numa primeira fase foi realizada a análise estatística direta das matrizes de conectividade, onde foram comparadas as matrizes do SELF com as do REST1, REST2 e VISUAL, e ainda uma comparação entre as matrizes "Movimento" e "Não movimento" do próprio SELF. Para tal, depois de introduzidas todas as matrizes de cada grupo no GraphVar, foi ativada, posteriormente, a opção "*Raw matrix*" (mantendo desativadas todas as outras opções deste painel). Em seguida, no painel "GLM" foi introduzida a variável de interesse no campo "*between factors*", e selecionada a opção "*permutation*" com 5000 repetições, por forma a realizar um teste não paramétrico.

A segunda fase de análise no GraphVar consistiu na construção das redes cerebrais, e cálculo das respetivas medidas topológicas. Neste passo, foi selecionada a opção "*Relative*"

no painel “*Network construction*”, considerando os limites : 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 e 0.5. Posteriormente, foi ativada a opção “*calculate graph metrics*” do painel “*Network calculation*”, e selecionadas as medidas de grau do nó e eficiência global.

3.6 Metodologia 3: Coerência entre sinal BOLD e intervalo RR

Por fim, e com o objetivo de estudar a interação entre sinal BOLD e sinal cardíaco, aplicou-se a coerência da transformada de Wavelet entre as oscilações BOLD espontâneas, e as oscilações do intervalo entre batimentos cardíacos da frequência cardíaca. Esta análise foi feita sobre as 32 regiões cerebrais e 21 sujeitos já previamente selecionados, tendo em conta as comparações entre o SELF e as duas tarefas de movimento (REST1 e REST2).

O estudo da coerência de Wavelet, e tal como nas duas metodologias já descritas anteriormente, baseou-se nas medidas de magnitude, fase e *phase-locking*, segundo as 3 bandas de frequência: 0.01-0.027 Hz, 0.027-0.073 Hz e 0.07-0.13 Hz. Ver figura 3.6.

O primeiro passo consistiu no desenvolvimento de rotinas em Matlab, que permitiram a criação de vetores específicos a cada sujeito, medida e banda de frequência, onde mais uma vez se recorreu às funções da *toolbox* “*Cross wavelet and wavelet coherence*”, e à exclusão da região fora do cone de influência. Em seguida, e depois de obtidas todas as matrizes, foi necessário proceder à aplicação de um teste de normalidade dos valores de coerência, para permitir saber qual o teste estatístico indicado (paramétrico ou não-paramétrico), já que não é possível fazer essa análise no GraphVar, tendo em conta os requisitos das matrizes de entrada do programa (matrizes $n \times n$).

Para tal, procedeu-se à aplicação do teste de Kolmogorov-Smirnov (teste não paramétrico que permite averiguar se os dados seguem uma distribuição normal [105]), através da função *kstest* do Matlab que retorna o valor 1, caso os dados venham de uma população com distribuição normal, ou o valor 0, caso contrário. Os resultados deste teste demonstraram que para todos os casos em estudo os valores não seguiam uma distribuição normal, pelo que se prosseguiu com um teste não paramétrico para obter os valores de *p-value* e extrair as conclusões necessárias.

O teste não paramétrico aplicado foi o de Wilcoxon, que permite avaliar se duas amostras independentes provêm de distribuições com medianas iguais. Desta forma, utilizou-se a função *ranksum* do Matlab, que aplica esse teste aos dados pretendidos, fornecendo o *p-value* resultante do mesmo, de acordo com um nível de significância de 0.05. Neste caso, as duas amostras do teste foram dois vetores, um correspondente ao SELF e outro a uma tarefa de repouso, que continham o valor da respetiva medida de coerência para cada sujeito e regiões cerebral. Para ser mais fácil analisar os resultados finais, utilizaram-se testes unilaterais, de forma a determinar qual das duas tarefas envolvidas apresentava maior coerência.

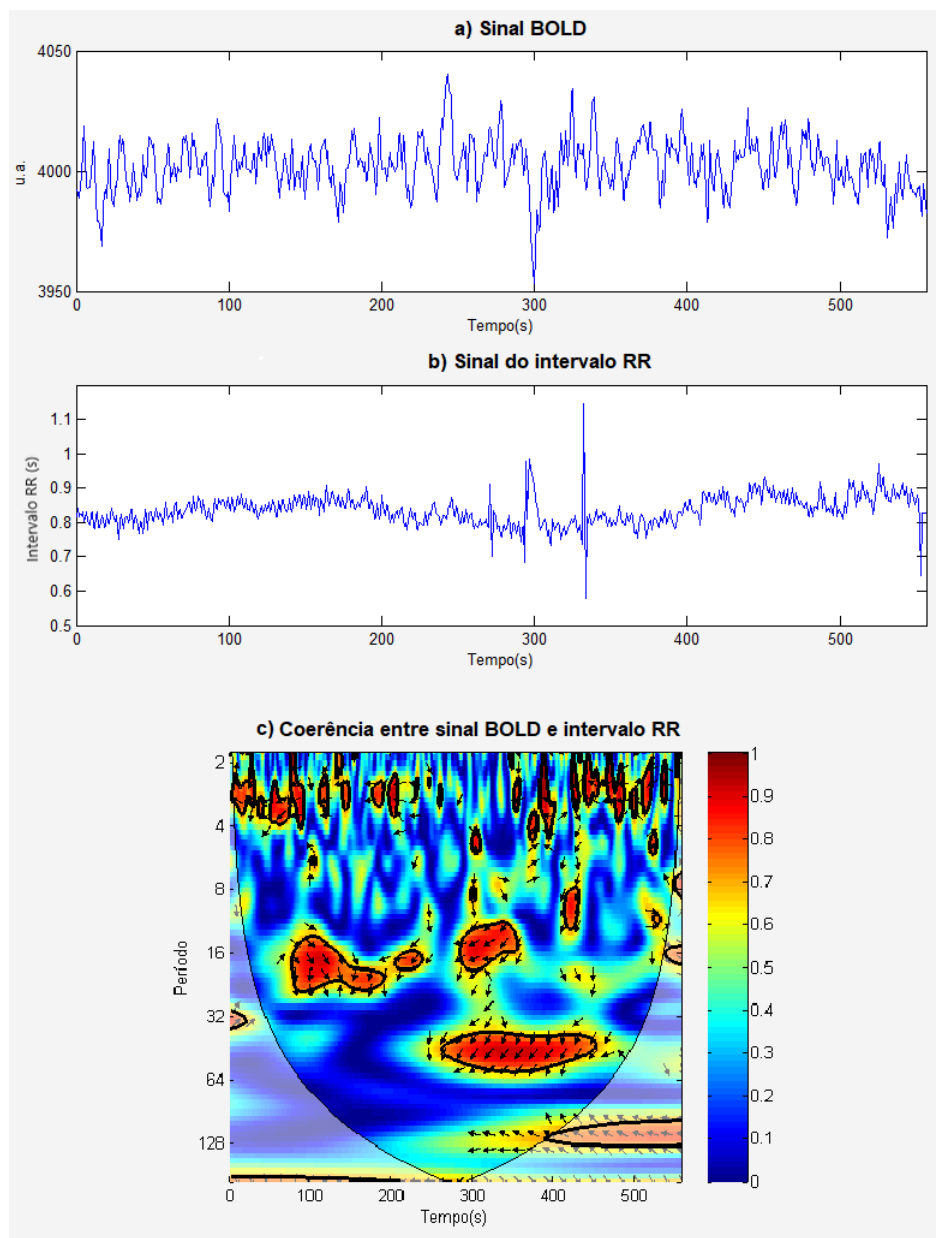


Figura 3.6: Exemplificação do sinal BOLD (a); sinal do intervalo RR (b); e da coerência de Wavelet entre ambos os sinais (c). Estes resultados são referentes à região M1 do HE, tarefa SELF, banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz, ensaio A e sujeito 1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos através da *toolbox* GraphVar, segundo as metodologias 1 e 2, e dos testes estatísticos da metodologia 3. Em seguida, será feita uma análise e discussão destes mesmo resultados, com base na literatura existente. Desta forma, será possível averiguar a potencialidade dos métodos implementados nos respetivos objetivos, previamente estabelecidos nesta tese.

4.1 Exploração dos resultados no GraphVar

A exploração de resultados no GraphVar é feita através da interface apresentada na figura 4.1, onde se pode encontrar 3 painéis distintos:

- Seleção dos resultados: contém quatro janelas distintas – “*Variables*”, onde é possível escolher qual a variável independente de interesse (por ex., tipo de movimento); “*GraphVar*”, permite selecionar a variável dependente (por ex., a medida de grafo pretendida); “*Threshold*” e “*Brain Areas*”, contêm os limites e áreas cerebrais predefinidos no painel “*Network Construction*”, respetivamente.
- Funções gerais: neste painel é possível especificar qual o nível de significância, e o método de correção a aplicar aos resultados paramétricos (correção Bonferroni ou *False Discovery Rate* (FDR)) e não-paramétricos (*Random Networks/Groups*). A opção “NBS” permite ainda obter uma representação 3D das redes neuronais [106].
- Visualizador de resultados: dependendo das opções selecionadas nos dois painéis acima, será possível observar os resultados pretendidos (de acordo com a dimensionalidade das medidas de grafos) e respetiva informação, que irá aparecer onde o *mouse* estiver posicionado: 1ª linha – região cerebral do eixo dos yy; 2ª linha – região cerebral do eixo dos xx; 3ª linha – diferença entre as médias dos grupos (d); 4ª linha

– t -Value; 5ª linha – p -Value. No caso de comparações de grupo os resultados serão apresentados conforme a diferença que é exibida na parte de baixo da interface, por exemplo, se estivermos a comparar os grupos REST1 e SELF: $Type_Mov_Rest1 - Type_Mov_Self$, significa que se o valor de d de um par de regiões for positivo, então a medida de conectividade em estudo é maior no grupo REST1 do que no SELF, e vice-versa.

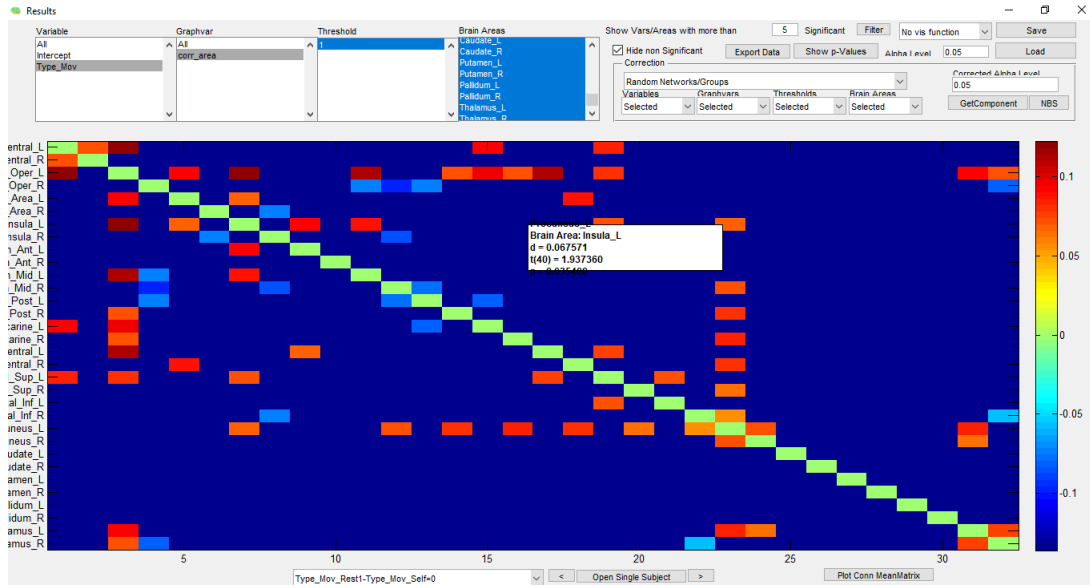


Figura 4.1: Ilustração da interface de exploração dos resultados do GraphVar. Na parte de cima da interface encontram-se 2 painéis, onde é possível escolher as variáveis, limites e regiões cerebrais que se pretendem visualizar, e ainda, as correções e nível de significância a aplicar. No painel de baixo é possível observar os resultados pretendidos (de acordo com a dimensionalidade das medidas de grafos) e respetiva informação, que irá aparecer onde o *mouse* estiver posicionado: 1ª linha – região cerebral do eixo dos yy; 2ª linha – região cerebral do eixo dos xx; 3ª linha – diferença entre as médias dos grupos (d); 4ª linha – t -Value; 5ª linha – p -Value.

4.2 Comparação entre tarefas

4.2.1 Análise das matrizes de conectividade

Os resultados que se encontram nesta secção foram obtidos através do GraphVar, tendo em conta as metodologias 1 e 2, por forma a estabelecer comparações entre as tarefas de interesse e identificar as conexões funcionais mais relevantes em cada uma. Primeiramente serão apresentados os resultados correspondentes às medidas de magnitude, em seguida de *phase-locking*, e por fim, das diferenças de fase.

Como referido anteriormente, estes resultados são apresentados tendo em conta a diferença $d = Tarefa_1 - Tarefa_2$, pelo que quando a medida de conectividade for superior na $Tarefa_1$ (comparativamente à $Tarefa_2$), cada par de regiões apresentará um valor de d

positivo, representado pela escala de cores quentes, e quanto maior for o valor de d , mais significativa será a conexão. Quando for a $Tarefa_2$ a possuir uma medida de conectividade mais elevada que a $Tarefa_1$, então o valor de d é negativo, e será apresentado na escala de cores frias, sendo que quanto menor for o valor de d , mais significativa será a conexão. Nas comparações obtidas teremos as seguintes diferenças d , de acordo com a respectiva tarefa:

- SELF: $d_S = Movimento - Não Movimento$
- REST1: $d_{R1} = REST1 - SELF$
- REST2: $d_{R2} = REST2 - SELF$
- VISUAL: $d_V = SELF - VISUAL$

Apenas serão exibidos os resultados cujos p -values não-paramétricos são considerados significativos, de acordo com o nível de significância de 0.05. Em cada eixo das matrizes que serão apresentadas, as regiões cerebrais estão identificadas através do respectivo número do atlas AAL. Para a obtenção dos resultados foi aplicada a correção *Random Networks/Groups*.

Relativamente aos resultados das comparações dentro do SELF, não foram obtidas quaisquer conexões significativas. Desta forma, e tendo em conta que com o limite de 30% escolhido para diferenciar entre "Movimento" e "Não Movimento" não se obtiveram ligações relevantes, repetiu-se as metodologias 1 e 2 para limites mais baixos, até um mínimo de 5% e com um intervalo de 5% entre limites. No entanto, os únicos resultados obtidos foram com a medida de fase na banda de 0.07 a 0.13 Hz, considerando os limites de 5% e 10%. Por esta razão, só serão apresentadas as comparações entre o SELF e as tarefas REST1, REST2 e VISUAL, em todos os resultados de magnitude e *phase-locking*, e ainda, nas 2 bandas de frequência mais baixa da medida de fase (0.01-0.027 Hz e 0.027-0.073 Hz).

4.2.1.1 Resultados de Magnitude

- **Banda de Frequência: 0.01-0.027 Hz**

Estes resultados encontram-se na figura 4.2.

Relativamente à comparação REST1>SELF do ensaio A, verifica-se uma forte conexão entre o M1 contralateral e as regiões: tálamo e parietal superior do hemisfério esquerdo e, M1 e S1 do hemisfério direito. A comparação oposta apresentou um maior número de resultados, observando-se fortes ligações entre o calcarino esquerdo e as áreas bilaterais do cíngulo medial e posterior. A parte opercular do giro frontal inferior no hemisfério direito também mostrou conexões entre o cíngulo medial e a SMA de ambos os hemisférios. Passando agora para o ensaio B, observa-se que de um modo geral foi obtido um padrão bastante diferente do ensaio anterior, apesar de certas conexões terem permanecido, como

aquelas associadas ao tálamo contralateral. Considerando a comparação REST1>SELF, vê-se claramente uma forte coerência da insula e tálamo contralaterais com outras regiões de ambos os hemisférios, como o calcarino e porções anterior e medial do cíngulo, no primeiro caso, e o M1, a SMA e a parte superior do lobo parietal, no segundo.

A comparação onde SELF>REST2 foi a que apresentou resultados mais relevantes comparativamente ao seu oposto, salientando-se assim as comunicações do tálamo direito com as regiões: parte opercular do giro frontal inferior, insula, cíngulo medial e precuneus do hemisfério direito e, cíngulo posterior e núcleo caudado do hemisfério esquerdo. A parte opercular do giro frontal inferior ipsilateral também revelou uma forte conectividade com as áreas: SMA, cíngulo medial e núcleo caudado contralaterais, e cíngulo posterior ipsilateral. Contrariamente ao ensaio anterior, no ensaio B obteve-se resultados mais significativos com REST2>SELF, revelando o envolvimento do tálamo contralateral (como aconteceu no REST1) e parietal inferior ipsilateral em diversas ligações. Globalmente, verifica-se a existência de um padrão bastante consistente em ambas as tarefas de repouso, quando se passa do ensaio A, onde havia uma maior ativação de regiões ipsilaterais no SELF, para o B, em que há uma forte ativação de áreas contralaterais no repouso. Esta alteração do padrão de um ensaio para outro poderá estar associada a estratégias criadas pelos sujeitos na pressão do botão, levando a que no segundo ensaio haja uma ativação diferente das áreas cerebrais.

Finalmente, quanto aos resultados associados à tarefa do VISUAL é possível verificar que foram mais escassos, e das poucas conexões significativas o SELF revelou uma maior conectividade, o que vai ao encontro do que era esperado, tendo em conta que esta banda de frequência não engloba a frequência de interesse (0.1 Hz). Contudo, é de salientar a ativação do putâmen com o M1, insula e S1 no hemisfério esquerdo.

- **Banda de Frequência: 0.027-0.073 Hz**

Estes resultados encontram-se na figura 4.3.

Começando por observar a comparação entre o REST1 e o SELF no ensaio A, constata-se uma grande semelhança com os resultados obtidos na banda de frequência anterior, verificando-se ainda um aumento de ligações associado às regiões: parte opercular do giro frontal inferior esquerdo e tálamo direito. O mesmo não acontece no ensaio B, onde para além de se encontrar um padrão geral diferente, todas as conexões apresentadas foram superiores no SELF. Algo interessante de se mencionar é o facto de se voltar a obter uma maior ativação em regiões do hemisfério direito no SELF. Para além disso, é de notar uma grande consistência entre ambos ensaios, uma vez que a conectividade entre diversas regiões se manteve, como é o caso das conexões que envolviam a parte opercular do giro frontal inferior direito, e mais especificamente, entre o cíngulo posterior esquerdo e medial direito, e entre o calcarino esquerdo e o cíngulo posterior direito.

No caso das comparações entre o REST2 e o SELF de ambos os ensaios verifica-se que de uma forma global foram bastante semelhantes aos da banda de frequência anterior.

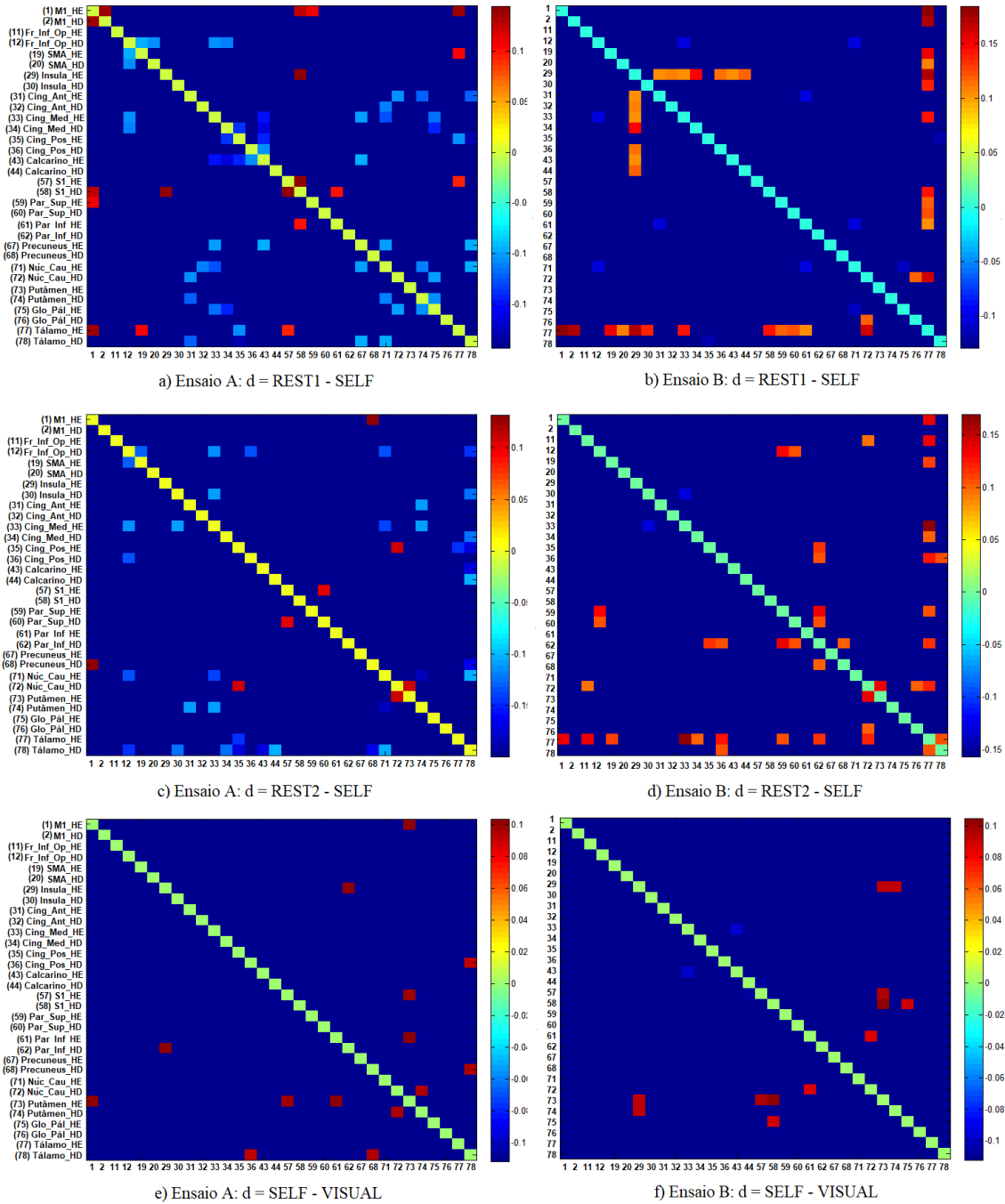


Figura 4.2: Resultados das matrizes de magnitude referentes à banda de frequência de 0.01 a 0.027 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respectivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.

Em relação ao REST1 da banda de frequência presente, confirma-se apenas a semelhança com o ensaio A do REST2. As conexões mais significativas envolvem a parte opercular do giro frontal inferior e o tálamo ipsilaterais no ensaio A, e tálamo contralateral no ensaio B.

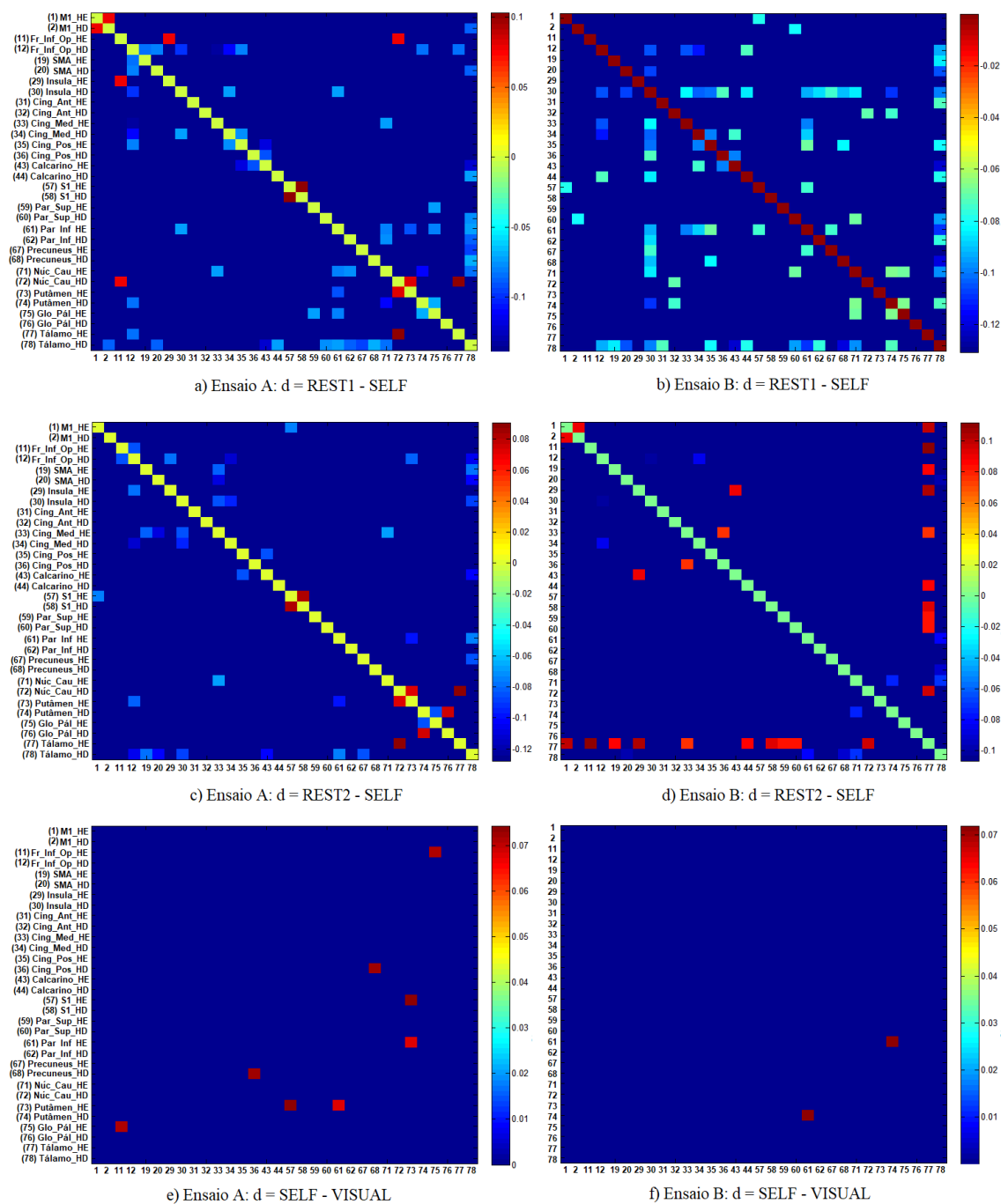


Figura 4.3: Resultados das matrizes de magnitude referentes à banda de frequência de 0.027 a 0.073 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respectivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.

Mais uma vez, e como aconteceu anteriormente, os resultados associados ao VISUAL foram quase inexistentes, revelando apenas as conexões entre o putâmen e o S1 e parietal inferior contralaterais; entre o cíngulo posterior e o precuneus ipsilaterais; e entre o globo pálido e a parte opercular do giro frontal inferior contralaterais, no ensaio A. No ensaio

B, apenas foi encontrada a ligação entre o parietal inferior esquerdo e o putâmen direito.

- **Banda de Frequência: 0.07-0.13 Hz**

Estes resultados encontram-se na figura 4.4.

Os resultados das comparações onde o REST1 é mais coerente que o SELF no ensaio A, mostram algumas diferenças em relação às duas bandas de frequência mencionadas acima: o precuneus esquerdo apresenta fortes conexões com regiões do hemisfério direito: insula, partes medial e posterior do cíngulo, calcarino, S1, partes superior e inferior do lobo parietal; e a parte opercular do giro frontal inferior contralateral com a SMA, insula, cíngulo medial, S1 e parietal superior do hemisfério esquerdo, calcarino e tálamo bilaterais, e cíngulo posterior direito. No entanto, é de notar que houve algumas regiões que permaneceram ativas, como é o caso da parte opercular do giro frontal inferior direito que conecta com o cíngulo medial bilateral, cíngulo posterior esquerdo e tálamo direito. A ligação do cíngulo posterior contralateral com o cíngulo medial ipsilateral também aparece aqui, tal como nos dois casos anteriores. No ensaio B observa-se mais uma vez um elevado número de conexões significativas no repouso associadas às regiões do M1, parte opercular do giro frontal inferior e insula contralaterais.

Os resultados associados ao REST2 mostraram-se bastante interessantes, já que aparentam uma certa reprodutibilidade em relação ao REST1, destacando-se como regiões mais coerentes no repouso o M1, a parte opercular do giro frontal inferior e a insula contralaterais. A parte opercular do giro frontal inferior direita aparece novamente com maior magnitude no SELF. Verificam-se ainda bastantes semelhanças em relação às bandas de frequência anteriores, onde se salienta o tálamo e a parte opercular do giro frontal inferior ipsilaterais. A grande consistência destas observações (entre ensaios, e entre bandas de frequência), permite-nos assegurar uma grande robustez perante os resultados obtidos com estas comparações.

Quanto à tarefa do VISUAL, e como já era de esperar nesta banda de frequência, tendo em conta que engloba a frequência de interesse de 0.1 Hz (e o fenómeno de *entrainment* [91]), todas as ligações observadas em ambos os ensaios apresentam maior coerência no VISUAL em comparação com o SELF na maior parte das regiões, exceto para o globo pálido e cíngulo posterior bilaterais, núcleo caudado ipsilateral e, parte opercular do giro frontal inferior e tálamo contralaterais (esta última região, só no ensaio A).

4.2.1.2 Resultados de *Phase-Locking*

- **Banda de Frequência: 0.01-0.027 Hz**

Estes resultados encontram-se na figura 4.5.

Relativamente ao ensaio A verifica-se que a maior parte das conexões significativas são superiores no SELF em relação ao REST1, onde as 3 partes do cíngulo (anterior ipsilateral, medial bilateral e posterior contralateral) aparecem em grande destaque pela

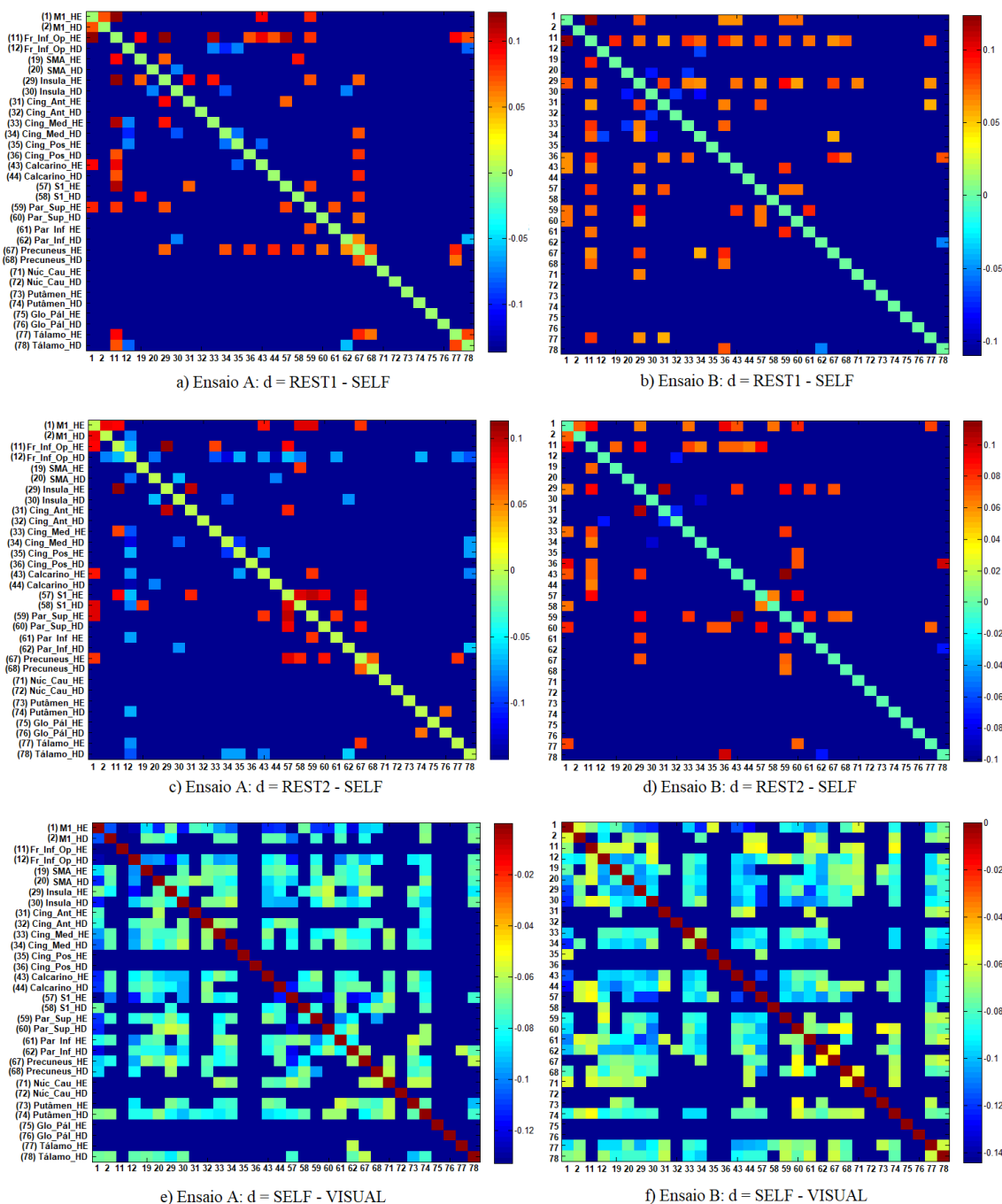


Figura 4.4: Resultados das matrizes de magnitude referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respectivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.

quantidade de ligações com outras regiões como o: tálamo direito, gânglios basais (globo pálido bilateral, putâmen direito, núcleo caudado esquerdo), precuneus e calcarino ipsi-laterais. Tal como aconteceu nos resultados de magnitude, observam-se as ligações entre o cíngulo posterior esquerdo e o medial bilateral; entre o M1 direito e esquerdo (neste

caso, quando $REST1 > SELF$); e entre a parte opercular do giro frontal inferior direito e a insula, e gânglios basais (núcleo caudado e putâmen esquerdos). Quanto aos resultados no ensaio B verifica-se que há um menor número de conexões e que não há uma grande reprodutibilidade entre ambos os ensaios. A região do tálamo contralateral volta a ser alvo de destaque, apresentando conectividade superior no repouso em comparação com o SELF.

Nas comparações do ensaio A, onde o REST2 apresenta maior *phase-locking* em relação ao SELF, o núcleo caudado ipsilateral conecta fortemente com o cíngulo medial direito e posterior bilateral, e ainda, com o calcarino direito. O globo pálido direito também comunica com o precuneus bilateral e putâmen ipsilateral. Quando o $SELF > REST2$ obtiveram-se resultados semelhantes aos mencionados com o REST1, onde se deu destaque à parte opercular do giro frontal inferior e tálamo ipsilaterais. No ensaio B só se encontram conexões onde o REST2 é mais coerente que o SELF salientando-se as fortes comunicações do tálamo contralateral, parte opercular do giro frontal inferior e parietal inferior ipsilaterais com outras regiões de ambos os hemisférios.

Em relação aos resultados associados ao VISUAL, e como aconteceu na magnitude, as conexões obtidas foram todas superiores no SELF, sendo que as ligações mais significativas no ensaio A envolveram o S1 com o putâmen no hemisfério esquerdo, e a SMA com o S1 no hemisfério direito. Relativamente ao ensaio B é possível observar que houve um aumento do número de conexões comparativamente ao ensaio anterior, salientando-se assim o globo pálido contralateral que comunica fortemente com a insula, o cíngulo medial, o S1, o parietal superior e inferior do hemisfério esquerdo, e o núcleo caudado do hemisfério direito. Mais uma vez, é observável a conexão entre o cíngulo medial direito e o posterior esquerdo, o que torna esta ligação bastante robusta.

- **Banda de Frequência: 0.027-0.073 Hz**

Estes resultados encontram-se na figura 4.6.

Tal como na banda de frequência anterior, a maior parte das conexões do ensaio A foram obtidas com a comparação $SELF > REST1$, onde se destaca novamente a parte opercular do giro frontal inferior e tálamo ipsilaterais. O ensaio B já aparenta um padrão mais distinto do observado na banda de frequência anterior, contudo, mostra uma certa reprodutibilidade com o ensaio A, como é possível verificar pela ativação das duas regiões já mencionadas acima. Outras ligações significativas envolvem o núcleo caudado contralateral que aparece conectado às regiões frontal inferior opercular, SMA e insula do hemisfério esquerdo, calcarino direito e parietal inferior bilateral; o calcarino esquerdo com as partes ipsilaterais do M1, frontal inferior opercular, SMA e insula; e por fim, o parietal inferior esquerdo com a SMA esquerda, insula direita, cíngulo anterior direito, medial bilateral e posterior esquerdo, e S1 contralateral.

Passando agora para os resultados do REST2, observa-se que uma das região que mais se destaca é o tálamo, como aconteceu nos resultados anteriores do REST1 e também

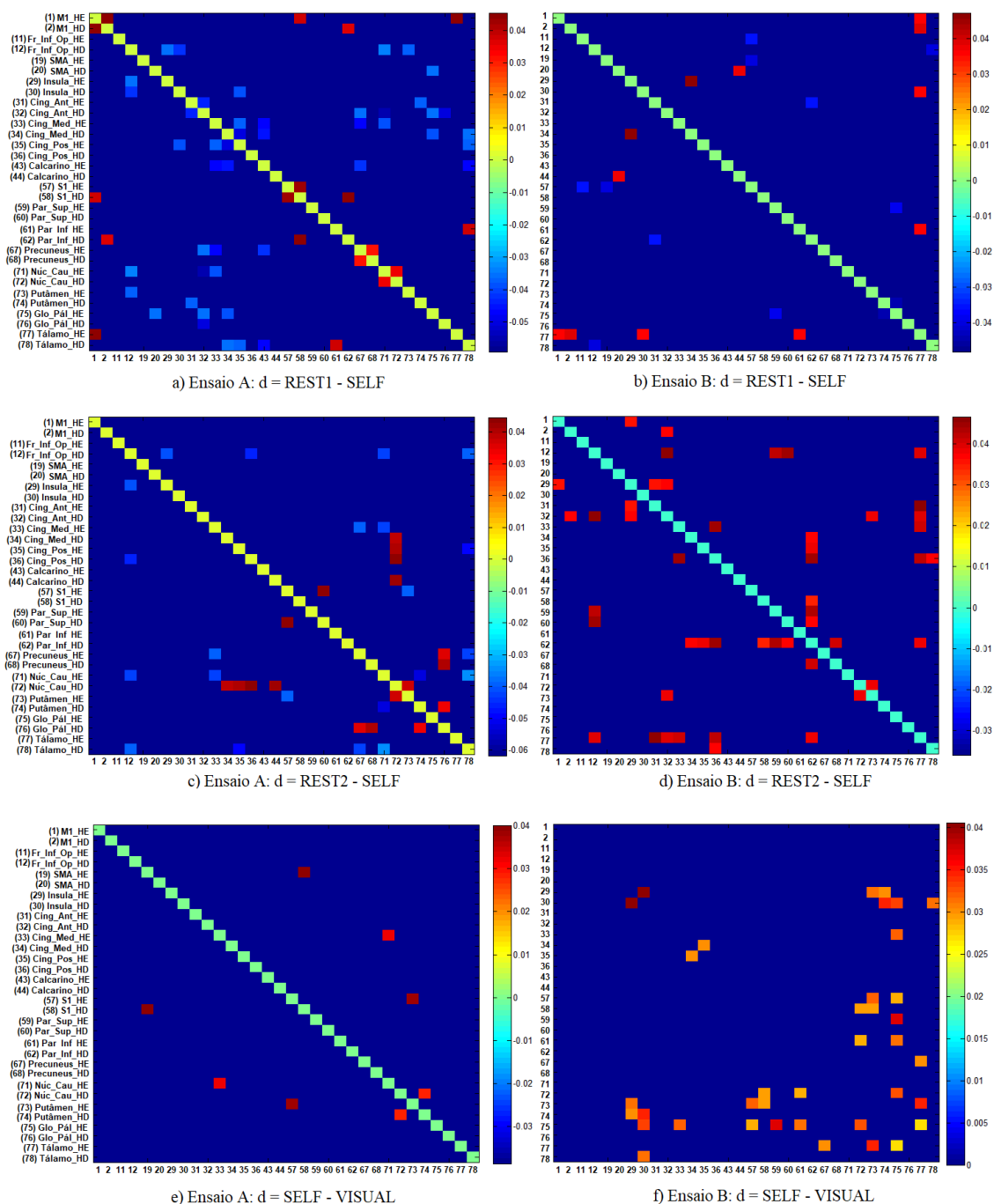


Figura 4.5: Resultados das matrizes de *phase-locking* referentes à banda de frequência de 0.01 a 0.027 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.

na banda de frequência de 0.01 a 0.027 Hz, sendo que no ensaio A ocorre a ativação desta região no hemisfério direito quando $\text{SELF} > \text{REST2}$, e no ensaio B, no hemisfério esquerdo quando $\text{REST2} > \text{SELF}$. No Ensaio A há ainda um *cluster* a envolver o cíngulo médio bilateral, com a SMA bilateral, insula e cíngulo anterior contralateral.

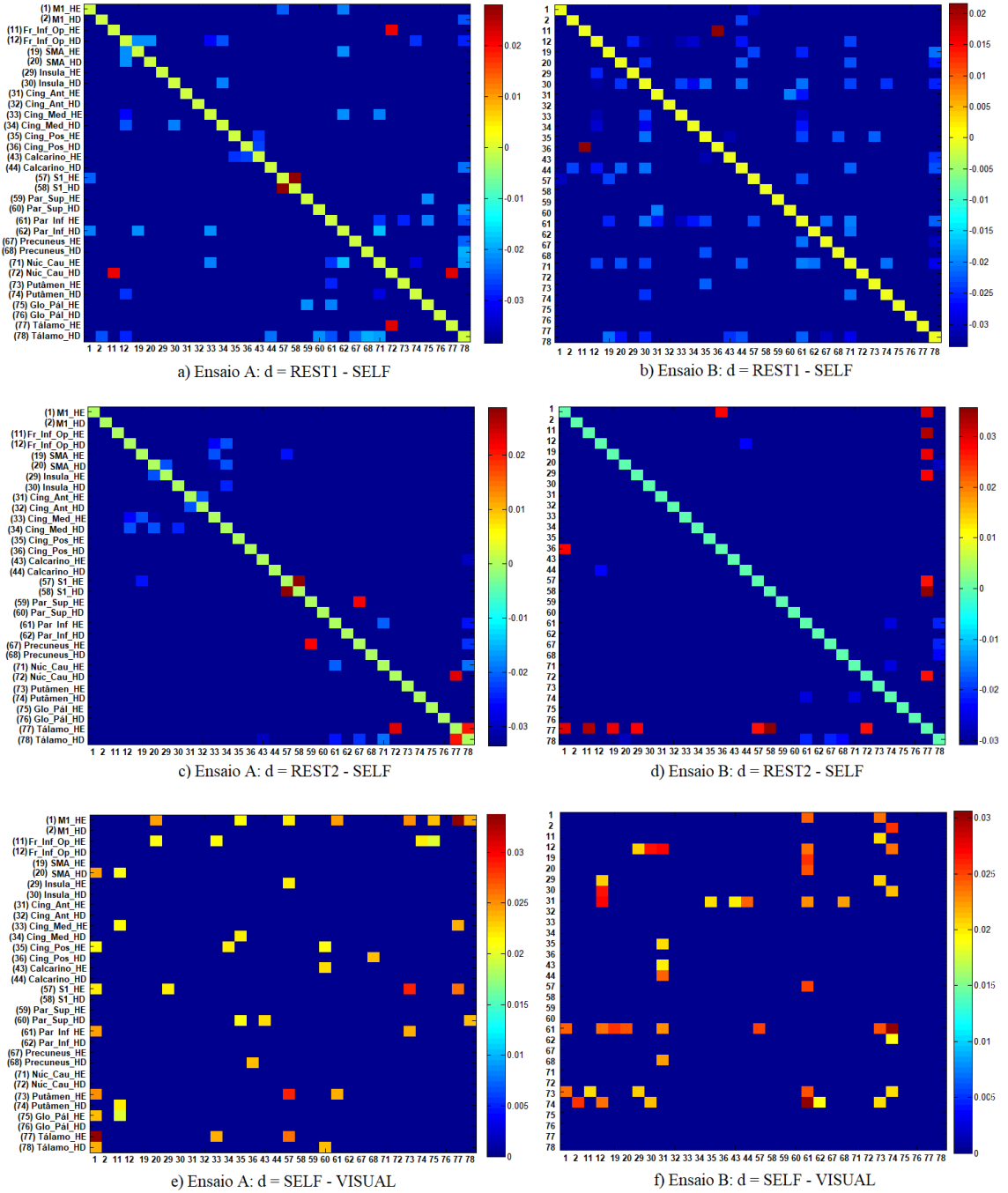


Figura 4.6: Resultados das matrizes de *phase-locking* referentes à banda de frequência de 0.027 a 0.073 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.

Quanto aos resultados do VISUAL, e como aconteceu na magnitude, todas as conexões foram superiores no SELF. No ensaio A verifica-se um aumento do número de ligações entre as regiões, contudo, com um padrão mais disperso, sendo que as conexões mais significativas envolveram o M1 com outras regiões do hemisfério esquerdo. No ensaio

B observa-se uma forte conexão associada ao putâmen com o M1, SMA, insula e parietal inferior em ambos os hemisférios. É também de notar a forte ativação do parietal inferior e cíngulo anterior contralaterais, e parte opercular do giro frontal inferior ipsilateral.

- **Banda de Frequência: 0.07-0.13 Hz**

Estes resultados encontram-se na figura 4.7.

A primeira observação importante sobre os resultados de *phase-locking* nesta banda de frequência é a enorme semelhança com os resultados obtidos com a medida de magnitude, principalmente, e como aconteceu nas duas bandas de frequência anteriores, nas matrizes de conectividade associadas às duas tarefas de repouso. Esta semelhança sugere que na maior parte das vezes em que os dois sinais BOLD não variam significativamente a sua fase na janela temporal de integração (estão fortemente síncronos entre si), as suas amplitudes também apresentam uma elevada coerência. Para além disso, no mecanismo de comunicação através de coerência proposto por Fries, onde o *phase-locking* entre as oscilações dos sinais está subjacente, este sugeriu que a conectividade inter-regional seja acompanhada tanto por um maior recrutamento neuronal (maior amplitude de oscilação) como por uma coerência de fase mais elevada (maior *phase-locking*) [107].

Nas comparações entre o SELF e o REST1 verifica-se que houve a perda da maior parte das conexões associadas ao tálamo. Para além disso, a maior parte das ligações significativas são superiores no REST1 em comparação com o SELF, contrariamente ao que se observou nas bandas de frequência anteriores.

Nas comparações com SELF>REST2 no ensaio verifica-se um aumento do número de ligações associadas à SMA e insula ipsilaterais, onde a primeira conecta com a insula bilateral, calcarino ipsilateral, cíngulo medial e posterior, putâmen, tálamo e S1 contralaterais, e a segunda, com o cíngulo medial direito e posterior esquerdo, S1 esquerdo e, parietal inferior, precuneus, núcleo caudado e tálamo ipsilaterais.

Relativamente ao VISUAL, constata-se que em comparação com os resultados de magnitude houve uma redução das conexões associadas ao tálamo ipsilateral, putâmen e cíngulo anterior bilaterais no ensaio A, e da parte opercular do giro frontal inferior, núcleo caudado e precuneus contralaterais no ensaio B.

4.2.1.3 Discussão dos resultados de Magnitude e *Phase-Locking*

Começando por comparar os resultados de magnitude apresentados na secção 4.2.1.1, com aqueles obtidos na tese onde se estudou a medida de magnitude através de outro método [28], verifica-se que houve algumas diferenças quanto às conexões significativas entre ambos, o que é de certa forma interessante, já que nos permite concluir que é possível encontrar diferenças localizadas no tempo com esta medida de conectividade.

A região do cíngulo posterior, que aparecia em grande destaque no estudo anterior quando REST1 e REST2 > SELF, não obteve muitas conexões significativas nas 2 bandas de frequência menores (de 0.01 a 0.07 Hz) do estudo presente, contudo, na 3ª banda

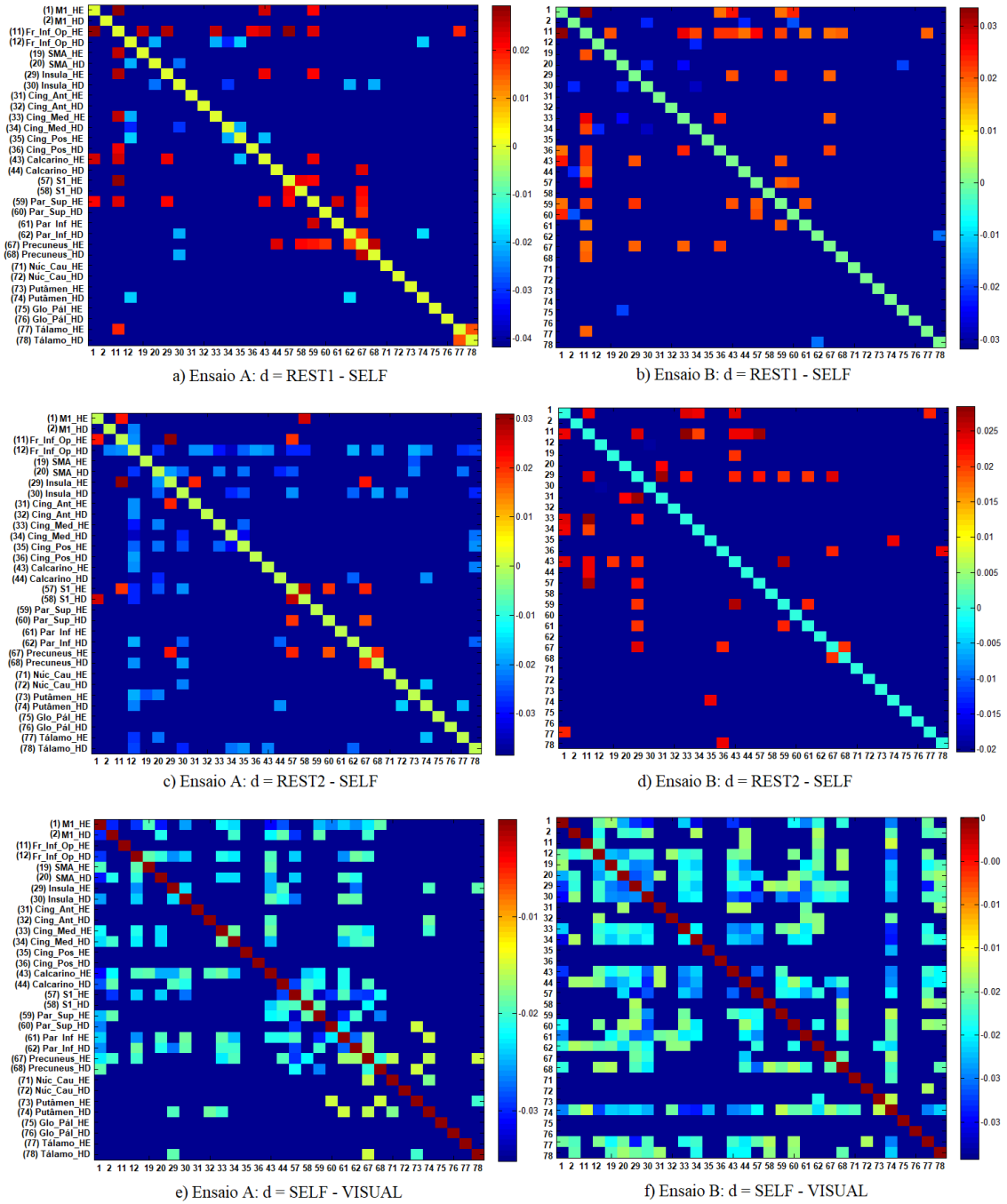


Figura 4.7: Resultados das matrizes de *phase-locking* referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.

(0.07-0.13 Hz) já se confirma alguma semelhança, mas mais associada ao hemisfério direito e ensaio B. O facto desta região apresentar maior coerência nas tarefas de repouso comparativamente ao SELF é justificado pela sua inclusão na DMN, que como foi referido na secção 2.3.3 do capítulo 2, exibe uma grande atividade no repouso, assim como rápida

desativação durante tarefas motoras, onde a atenção é direcionada para o exterior [77]. Isto também explica a ausência de conexões associadas ao cíngulo posterior nas comparações que envolvem o VISUAL, que por sua vez, estão em concordância com o estudo de Singh e Fawcett, onde estes verificaram que a DMN era inibida durante a realização de uma tarefa de discriminação visual [108]. No entanto, o facto de haver evidências de um aumento na atividade da DMN em situações onde a atenção é direcionada internamente, como por exemplo na recuperação de memórias autobiográficas ou planos para o futuro [109], poderá explicar os casos em que a coerência foi maior no SELF, comparativamente às tarefas de repouso.

A conexão entre o cíngulo posterior e o precuneus é bastante referida na bibliografia, já que esta última região também integra a DMN, daí aparecer com conectividade superior nas tarefas de repouso comparativamente ao SELF. Para além disso, a sua envolvimento na comparação oposta ($\text{SELF} > \text{REST1}, \text{REST2}$) vai ao encontro de estudos que mostraram que esta ligação está associada ao processamento consciente de informação durante tarefas cognitivas complexas [110]. Soon et al. mostraram ainda a presença desta conexão aproximadamente 10 s antes de surgir a decisão consciente de agir, sugerindo que o precuneus estava envolvido no armazenamento da decisão até esta se tornar consciente [23].

Para além do papel do cíngulo posterior na DMN, diversos estudos comprovaram a interação desta região com diferentes redes de conectividade intrínsecas em todo o cérebro [111], como é o caso da rede de atenção dorsal [112] e da rede de controlo fronto-parietal [113], que estão anti-correlacionadas com a DMN, ou seja, quando se dá o aumento da atividade nas duas primeiras, a DMN é desativada. A primeira rede é composta pelo sulco intraparietal, partes do lobo parietal superior, complexo medial do lobo temporal e pelos campos oculares frontais, de ambos os hemisférios, e a segunda, por partes da lobo frontal, córtex pré-frontal dorsolateral, a parte rostral do cíngulo anterior e área motora pré-suplementar, a insula anterior e partes do lobo parietal inferior, podendo separar-se em duas redes lateralizadas. Isto justifica o surgimento de conexões entre esta região e as áreas incluídas nestas redes, nas comparações onde o SELF foi superior às tarefas de repouso (fenómeno bastante evidente nas figuras 4.3 (b), 4.6 (b) e 4.7 (b), por exemplo).

A co-ativação entre a insula e o cíngulo anterior, que se observa fortemente nos resultados da figura 4.4 a)b)c)d), está associada à consciência emocional de funções cognitivas e à influência da emoção na cognição, fazendo parte da rede emocional *salience* [114]. Outro estudo encontrou ainda a ativação de ambas as regiões numa tarefa de *mind-wandering* [115], confirmando assim o papel desta conexão no repouso, e o facto de ter aparecido com maior conectividade no REST1 e REST2. Outra conexão com a insula foi encontrada por Wu et al., que demonstraram que em pacientes com a doença de Parkinson, dá-se uma redução da conectividade funcional entre o putâmen esquerdo e a insula direita com a pre-SMA, indo ao encontro do papel destas regiões no controlo da vontade de realizar um movimento [116].

O papel da insula no movimento voluntário tem sido demonstrado por estudos que

ligam esta região à intenção de agir [97], [117], e tal como nos resultados da tese anterior com a medida de *phase-locking* [27], observam-se várias ligações associadas a esta região no estudo presente. Tendo sido provado que quanto maior o esforço voluntário aplicado à ação, maior será a sua ativação [118]. Pfurtscheller et al. salientam ainda que a conexão entre a insula e a SMA poderá condicionar a iniciação destes movimentos em livre-arbítrio [4]. Para além disso, foi também provado que é responsável pela atenção, intenções/escolhas cognitivas, consciência de movimento e sensações, pelo que Craig sugeriu que o *Anterior Insular Cortex* (AIC) fosse um “*neural correlate of consciousness*” [114]. Estudos em que compararam a ativação do AIC nos movimentos iniciados por livre-arbítrio e induzidos por estímulo visual verificaram que não houve diferenças significativas entre ambos [26], [95]. No entanto, Jenkins et al mostraram que a ativação desta região nos movimentos voluntários era superior comparativamente aos movimentos induzidos por estímulo, ainda assim, foi também encontrada ativação quando se comparou estes últimos com o repouso, pelo que se concluiu que a AIC não está exclusivamente envolvida no livre-arbítrio, o que é confirmado pela presença de conexões no VISUAL, onde a insula está envolvida [97].

Num estudo realizado por Nguyen et al. em 2014, estes verificaram que a conexão entre o aMCC e a SMA era essencial para a sustentação da atividade antes do movimento (parte inicial do RP), e influenciava a transição da preparação da ação para a iniciação do movimento [10]. O papel do cíngulo medial no movimento voluntário também foi comprovado por outros estudos como estando envolvido no processo de seleção de uma ação [119], e iniciação do mesmo [120], daí o surgimento de inúmeras conexões significativas no SELF em comparação com as tarefas de repouso.

A conexão entre a gânglia basal e o tálamo, que se observa frequentemente nos resultados, vai ao encontro de estudos que identificaram esta conexão em movimentos voluntários [121], [122]. Rektor sugeriu ainda que estas regiões poderiam ser geradores subcorticais do RP [123]. Estes estudos poderão justificar a forte envolvência do tálamo na grande maioria dos resultados obtidos. O papel da gânglia basal nestes movimentos tem sido mostrado por evidências onde esta região apareceu mais ativa em comparação com o repouso e movimento induzido por estímulo [124]. Por exemplo, Cunnington et al. verificaram uma maior ativação do putâmen e globo pálido no hemisfério direito nos movimentos livres em comparação com os induzidos por um estímulo [26], o que vai ao encontro do estudo de Witt et al. que associa estas duas regiões na intenção (interna) de agir, ao invés de induzida por um estímulo externo [125], permitindo esclarecer a ausência de conexões destas regiões na tarefa do VISUAL. Para além destas evidências, Hoffstaedter identificou uma rede neuronal associada à seleção do momento da execução de uma ação voluntária onde se incluem o putâmen e globo pálido bilaterais dos gânglios basais, e ainda, a SMA, insula e parte opercular do giro frontal inferior bilaterais [120].

Em particular a parte opercular do giro frontal inferior é outra das regiões de maior destaque em todos os resultados obtidos, como é possível ver pelo elevado número de conexões com outras áreas, em ambas as medidas de conectividade. Uma maior ativação

desta área no hemisfério direito foi encontrada no movimento voluntário em comparação com o repouso [95], e com o VISUAL [97]. Para além disso, diversos estudos têm associado esta região (no hemisfério direito) em processos cognitivos de inibição [126], [127], e também na recuperação [128] e codificação [129] de memórias de trabalho. Em 2010, Wiener et al. verificaram ainda que a SMA e a parte opercular do giro frontal inferior direito fazem parte de uma rede central que medeia o *timing* no cérebro [130]. Todas estas evidências justificam as inúmeras ligações desta região nos casos em que os movimentos voluntários apresentavam maior conectividade que nas outras tarefas, onde no caso específico de processos cognitivos de inibição, sugere que os sujeitos poderiam estar a pensar em pressionar o botão, mas acabar por inibir a ação nesse mesmo instante.

Uma conexão que também aparece frequentemente ocorre entre o M1 direito e M1 esquerdo, corrobora o estudo feito por Biswal, onde este concluiu que esta ligação era a prova de existência de conectividade funcional entre as oscilações lentas de fMRI no repouso [69].

O papel do córtex parietal nestes movimentos foi comprovado através de evidências que o ligam à intenção consciente de agir [23], estando também envolvido num dos circuitos neuronais propostos por Haggard, em 2008 [2]. Em particular, Desmurget et al. verificaram que a estimulação elétrica do córtex parietal induzia uma sensação para mover, mostrando ainda uma dissociação entre os efeitos de estimular áreas pré-motoras e parietais [131].

A obtenção de resultados diferentes nas 3 bandas de frequência, apesar de várias conexões significativas aparecerem simultaneamente em todas, permite ver claramente que a grande parte dos resultados se encontram na banda de 0.07 a 0.13 Hz, já que contém a frequência de interesse de 0.1 Hz. Como também era esperado, a banda de 0.01 a 0.027 Hz foi a que correspondeu a menos resultados significativos. Gohel e Biswal verificaram que as redes neuronais de repouso variavam consideravelmente entre bandas de frequência, sendo que, redes como a DMN, visual e sensoriomotora exibem uma maior extensão espacial na banda de 0.027 a 0.073 Hz, e as redes de atenção dorsal, frontal-parietal e *salience* para frequências superiores a 0.073 Hz [100], confirmando assim os resultados obtidos.

4.2.1.4 Resultados de Fase

Os únicos resultados significativos obtidos na comparação dentro do SELF ("Movimento" e "Não Movimento") foram conseguidos com esta medida das diferenças de fase e na banda de 0.07 a 0.13 Hz, para os limites de 5% e 10% do critério de separação implementado na metodologia 2 (secção 3.4 do capítulo 3). Por esta razão, nos resultados que se seguem serão apresentadas, para além das comparações entre o SELF e as tarefas REST1, REST2 e VISUAL em todas as bandas de frequência, as comparações dentro do próprio SELF na banda de frequência mencionada acima.

- **Banda de Frequência: 0.01-0.027 Hz**

Estes resultados encontram-se na figura 4.8.

Começando por observar os resultados do ensaio A, referentes ao REST1 verifica-se, tal como anteriormente com os resultados de magnitude e *phase-locking*, a grande ativação da parte opercular do giro frontal inferior direito quando SELF>REST1, que comunica com o M1, cíngulo anterior, S1 e parietal inferior contralaterais, putâmen ipsilateral e tálamo bilateral. O cíngulo anterior bilateral também se destaca pela elevada conectividade com as regiões: precuneus, S1 e calcarino contralaterais, parietal inferior ipsilateral e parietal superior bilateral, da qual resulta um *cluster*. No ensaio B o núcleo caudado ipsilateral é a área que apresenta conexões mais significativas no REST1, e com todas as outras regiões selecionadas. É também possível observar as conexões no hemisfério direito entre o tálamo e a parte opercular do giro frontal inferior e parietal inferior.

Relativamente aos resultados associados à segunda tarefa de movimento, não há uma reprodutibilidade em relação ao REST1, sendo que as conexões mais significativas apresentam um padrão mais disperso entre si. Contudo é de notar a formação de um *cluster* entre o S1 e o núcleo caudado bilaterais. Houve também algumas ligações entre a parte opercular do giro frontal inferior esquerdo e outras regiões como o cíngulo medial bilateral e posterior direito, a insula e o tálamo direitos, onde este último também se conecta fortemente com o núcleo caudado e globo pálido ipsilaterais. No ensaio B, e considerando SELF>REST2, observa-se uma forte ativação do globo pálido ipsilateral com várias outras áreas: M1 e parte opercular do giro frontal inferior ipsilaterais, SMA, cíngulo posterior, S1 e precuneus bilaterais, insula, cíngulo anterior e medial contralaterais. O parietal inferior contralateral conecta ainda com cíngulo anterior e medial esquerdos, e posterior direito.

Quanto aos resultados com o VISUAL no ensaio A, não foram obtidas conexões muito significativas. Já no ensaio B observa-se a forte ligação entre o cíngulo anterior ipsilateral com o parietal superior e tálamo direitos, e putâmen esquerdo. O núcleo caudado bilateral forma ainda um *cluster* com o parietal inferior contralateral e superior ipsilateral, onde este último conecta fortemente com o cíngulo posterior bilateral.

- **Banda de Frequência: 0.027-0.073 Hz**

Estes resultados encontram-se na figura 4.9.

Os resultados referentes ao REST1 mostraram-se bastante diferentes dos obtidos na banda anterior, contudo, verifica-se um aumento significativo do número de conexões de um modo geral, e com uma grande reprodutibilidade entre os dois ensaios. As regiões de maior destaque, por apresentarem ligações com a maior parte das áreas restantes, são a SMA, tálamo, globo pálido e núcleo caudado no hemisfério direito, e precuneus no hemisfério esquerdo, considerando REST1>SELF.

Relativamente à segunda tarefa de repouso observa-se um padrão distinto do encontrado na banda de frequência anterior e REST1 da banda presente, no entanto, apresenta alguma consistência entre ambos os ensaios. As conexões mais significativas do ensaio A para SELF>REST2, estão associadas aos gânglios basais (núcleo caudado e globo pálido

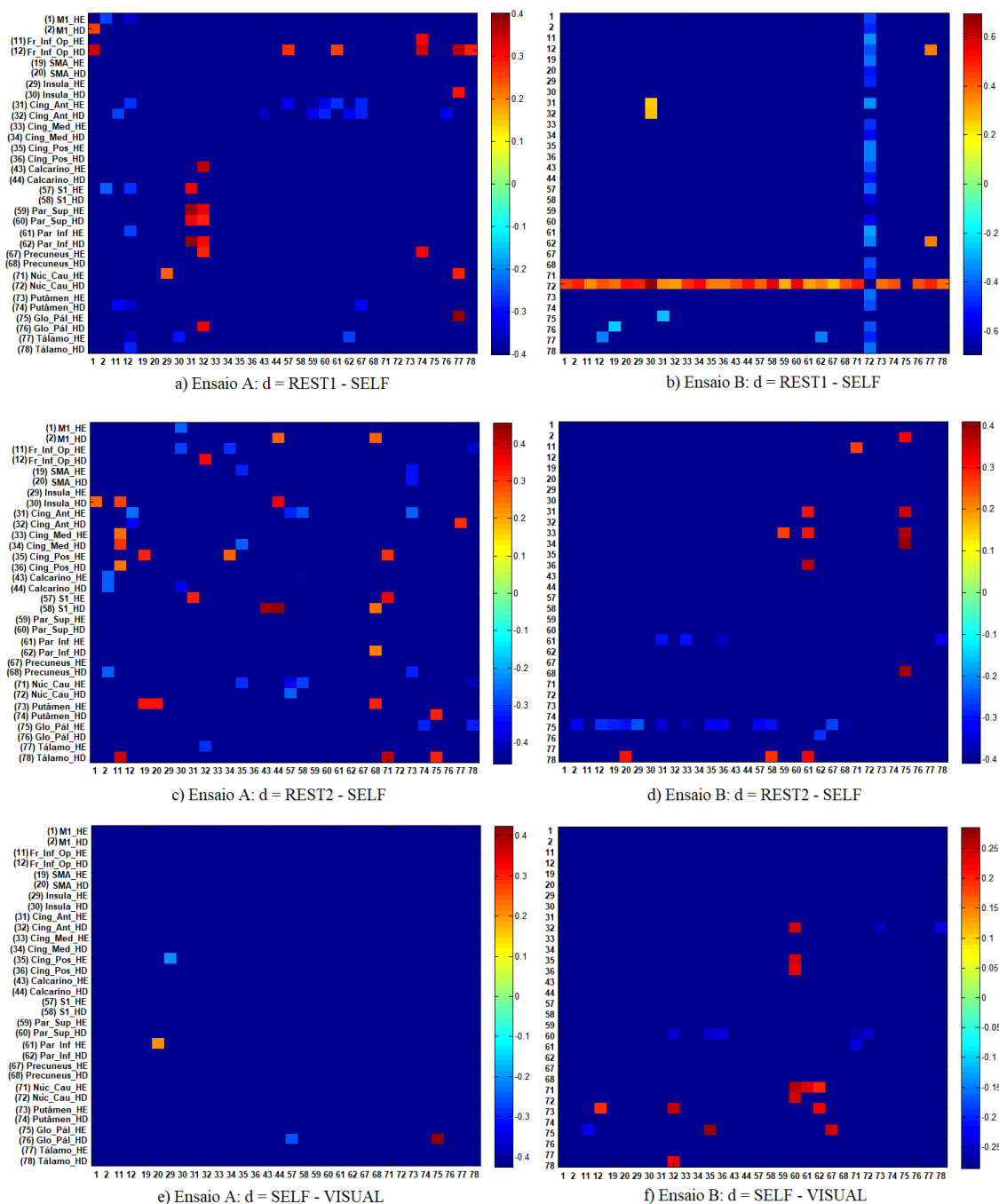


Figura 4.8: Resultados das matrizes da fase referentes à banda de frequência de 0.01 a 0.027 Hz. As imagens do lados esquerdos e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.

esquerdos, putâmen direito) e tálamo esquerdo. Quando $\text{REST2} > \text{SELF}$ verificam-se bastantes conexões entre todas as partes do cíngulo e as regiões do lobo parietal (parietal superior bilateral, parietal inferior direito e precuneus esquerdo). No ensaio B, as principais diferenças quanto ao ensaio anterior, são a redução das conexões nos gânglios basais,

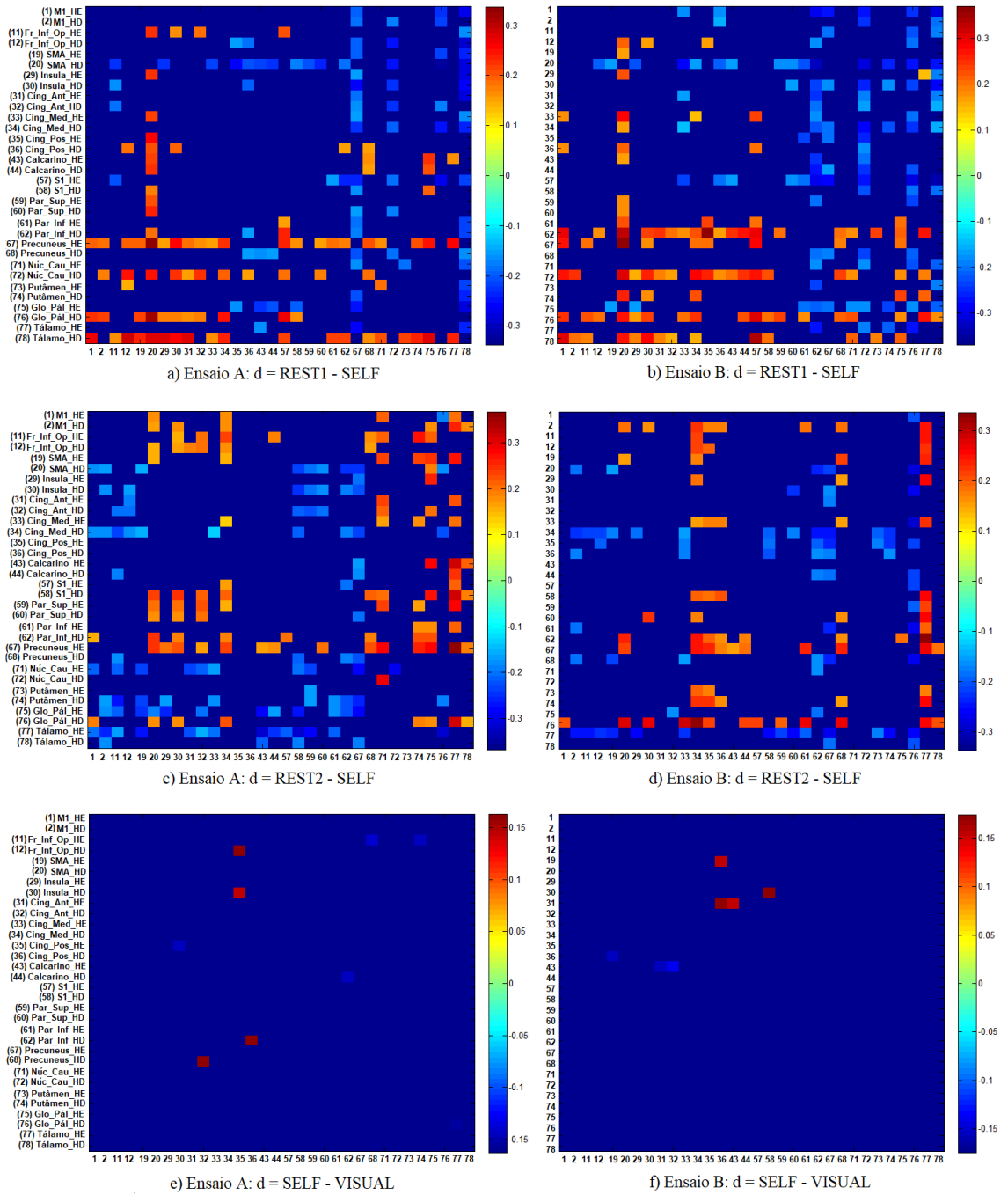


Figura 4.9: Resultados das matrizes da fase referentes à banda de frequência de 0.027 a 0.073 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.

e o surgimento de dois *cluster*: um deles entre o putâmen bilateral e o cíngulo (medial e posterior), e o outro, entre o parietal inferior direito e o precuneus esquerdo, com o cíngulo medial(direito) e posterior (bilateral), e calcarino bilateral.

Os resultados do VISUAL foram mais uma vez pouco significativos. Algumas das

conexões relevantes para VISUAL>SELF no ensaio B, foram entre o calcarino esquerdo e o cíngulo anterior bilateral, e entre a SMA e o cíngulo anterior direito.

- **Banda de Frequência: 0.07-0.13 Hz**

Os resultados referentes às comparações dentro do próprio SELF encontram-se na figura 4.10.

Ao comparar as duas matrizes cujo limite do critério de seleção era igual a 5% (figura 4.10 (a)(b)) com as outras referentes ao limite de 10% (figura 4.10 (c)(d)), verifica-se um grande redução do número de conexões, apesar de haver alguma reprodutibilidade entre si. As regiões de maior destaque no ensaio A foram o putâmen e núcleo caudado ipsilaterais, em que o primeiro estabelece conexões significativas com o cíngulo anterior e posterior bilaterais, o calcarino e precuneus ipsilaterais, e o segundo, com a insula e cíngulo posterior, parietal superior e putâmen contralaterais. No ensaio B, surgem algumas conexões associadas ao parietal superior esquerdo no "Movimento", e parte opercular do giro frontal inferior e globo pálido direitos no "Não Movimento".

O facto de não se terem obtido resultados relevantes associados às comparações dentro do próprio SELF, principalmente nas medidas de magnitude e *phase-locking*, pode estar relacionado com o critério escolhido para seleção dos instantes de "Movimento" e "não Movimento". A utilização de um critério mais seletivo, tendo em conta as diferentes fases de preparação de um movimento voluntário (preparação, iniciação, execução) e ainda os tempos associados a cada uma (também já registados na bibliografia), poderá levar à obtenção de conexões significativas nesta comparação.

Os resultados referentes às comparações entre o SELF e as tarefas REST1, REST2 e VISUAL encontram-se na figura 4.11.

Nesta banda de frequência os resultados foram bastante interessantes, principalmente pela sua robustez nas duas tarefas de repouso (e ambos os ensaios), já que a maior parte das regiões estabeleceram ligações com as restantes, exceto a SMA, as 3 porções do cíngulo e o calcarino bilaterais, que não possuem conexões entre si. Para além disso, é de salientar a grande preferência de regiões do hemisfério esquerdo quando REST1 e REST2>SELF, e do hemisfério direito na comparação oposta. Sugerindo assim a existência de uma assimetria entre hemisférios, relacionada com as tarefas de repouso e movimento voluntário.

Quanto à tarefa do VISUAL, não foram obtidos resultados tão impressionantes e robustos como os anteriores. Relativamente ao ensaio A, observa-se uma forte ativação da parte opercular do giro frontal inferior e globo pálido contralaterais para VISUAL>SELF. No SELF>VISUAL, é possível encontrar dois *clusters* associados ao núcleo caudado bilateral com a SMA direita, insula esquerda e partes medial e posterior do cíngulo de ambos os hemisférios. Quanto ao ensaio B a maior parte das conexões foram para SELF>VISUAL, associadas a regiões do M1 e S1 contralaterais e, parte opercular do giro frontal inferior, insula e SMA bilaterais, com regiões do lobo parietal e gânglios basais (núcleo caudado bilateral e putâmen esquerdo).

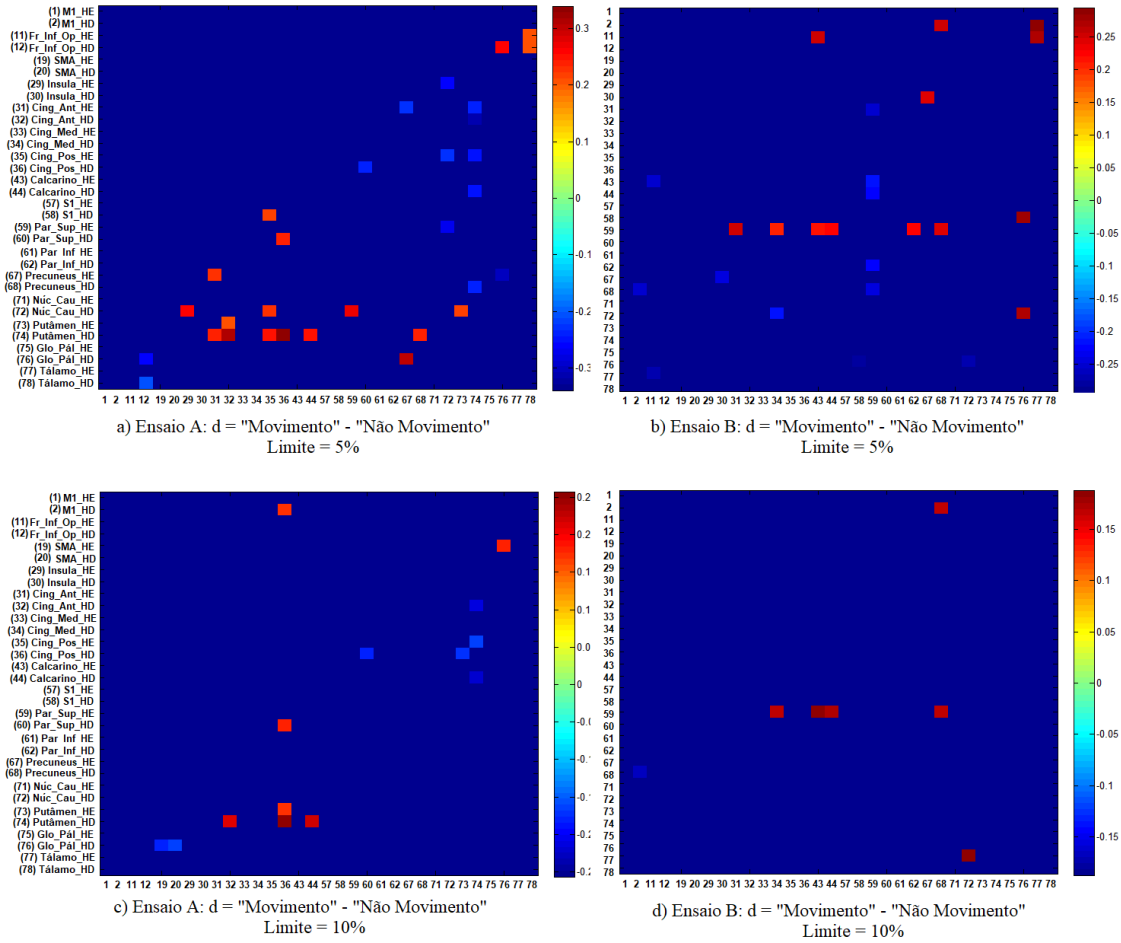


Figura 4.10: Resultados das matrizes da fase considerando a comparação entre "Movimento" e "Não Movimento" do SELF, para os limites de 5% (em cima) e 10% (em baixo). Banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.

4.2.1.5 Discussão dos resultados da Fase

Depois de observados todos os resultados com a medida de fase verifica-se um fenómeno bastante relevante que ocorre principalmente na banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz: o padrão de alternância (inibição e excitação) entre hemisfério esquerdo e direito para a mesma região. Apesar de menos evidente, também é possível encontrar este padrão nos resultados de magnitude e *phase-locking*.

A envolvimento de várias regiões do hemisfério direito quando o SELF apresenta maior conectividade que nas restantes tarefas é confirmada por diversos estudos. Por exemplo, Garavan et al., utilizaram a fMRI com o intuito de estudar a resposta cognitiva de inibição [132]. Estes observaram que uma grande predominância de regiões associadas a esta função se localizavam no hemisfério direito, como a insula e as partes inferiores dos lobos frontal e parietal. Herrington et al. demonstraram que num grupo de pacientes com

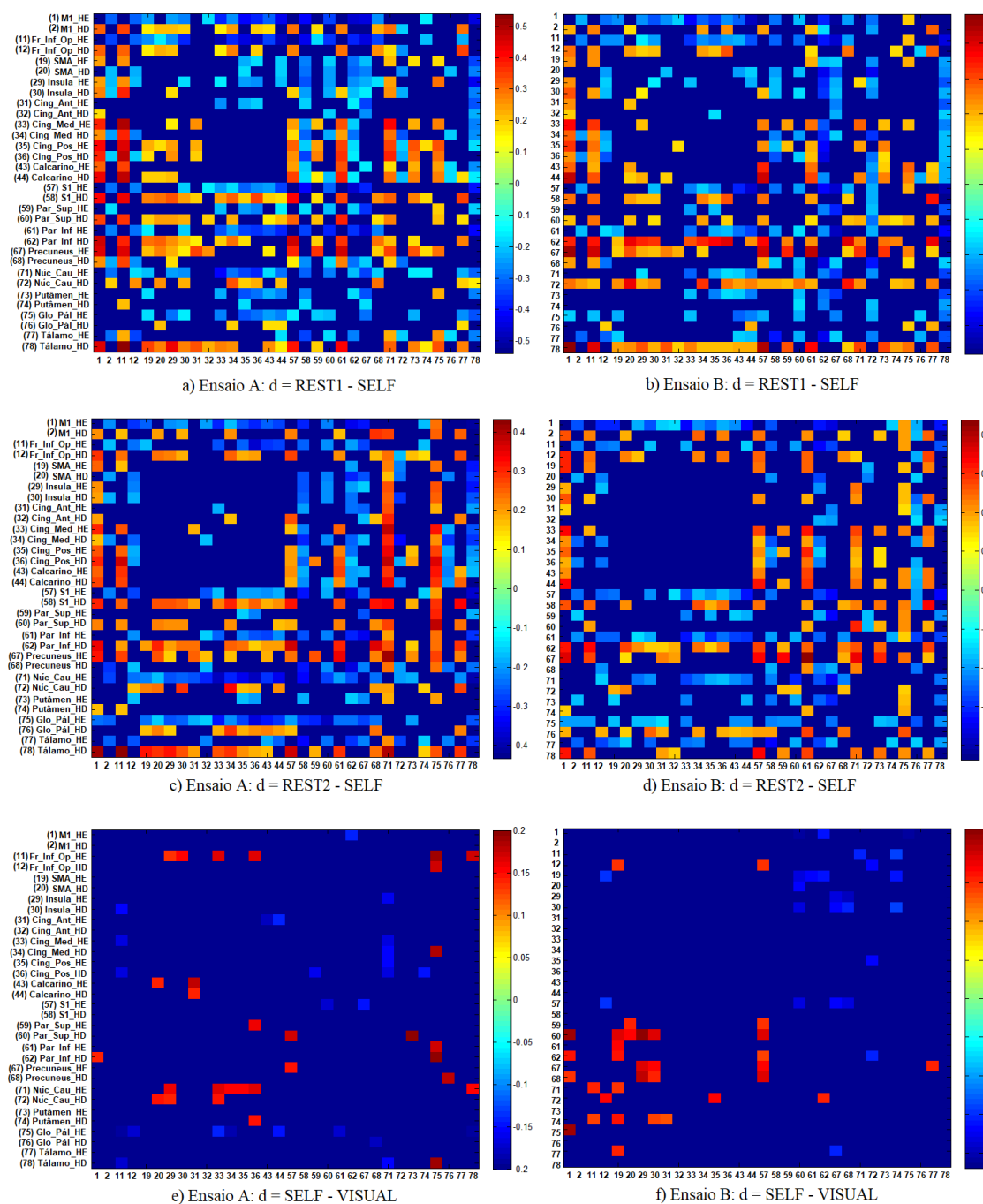


Figura 4.11: Resultados das matrizes da fase referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respectivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença d correspondente à tarefa em estudo.

depressão estes apresentaram uma maior dominância do hemisfério direito no córtex pré-frontal (em particular no córtex pré-frontal dorsolateral), salientando ainda a existência de assimetrias em processos associados à emoção [133]. O estudo de uma rede com regiões frontoparietais do hemisfério direito tem sugerido uma forte envolvimento na geração de

consciência própria [134].

Num estudo realizado por Soon et al. em 2008, estes verificaram que a decisão de realizar um movimento voluntário poderia ser codificada nos córtices pré-frontal (córtex frontopolar) e parietal (do precuneus para o cíngulo posterior) até 10 s antes desta entrar em consciência, e também noutras áreas apesar de com menos intensidade (como o cíngulo anterior), enquanto que nas áreas SMA e pre-SMA, só se conseguia prever 5 s antes [23]. Estas evidências confirmam assim as diferenças de fase encontradas entre estas 2 áreas e todas as outras listadas.

A sequência dos dois circuitos propostos por Haggard, que como foi referido no capítulo 2, o primeiro começa na gânglia basal e córtex pré-frontal, terminando no M1 , via pre-SMA e SMA, e o segundo, parte do S1 para o córtex parietal, deste para o córtex pré-motor, terminando mais uma vez no M1 [2], confirmam os resultados obtidos onde podemos observar um grande número de conexões associadas à gânglia basal (núcleo caudado, putâmen, globo pálido) e córtex parietal (partes inferior e superior do lobo parietal e precuneus).

Em 2014, Pfurtscheller et al. concluíram a existência de uma ligação entre a SMA e insula, onde a ativação da insula antecedia a da SMA em 0.5-1s, no entanto, esta ligação não obteve muita significância nos resultados apresentados [4]. Cunnington et al. constataram ainda que a ativação da SMA ocorria mais cedo em movimentos voluntários do que no VISUAL, enquanto que o cíngulo anterior não obteve diferenças significativas, o que também vai ao encontro dos resultados associados à tarefa do VISUAL, já que não houve conexões significativas associadas a ambas [26]. No entanto, tendo em conta que a diferença temporal entre a SMA e o cíngulo anterior encontrada neste estudo não é muito significativa, poderá justificar a ausência de diferenças de fase entre ambas as regiões no resultados obtidos.

Sun et al. utilizaram a fase da coerência para estudar a dinâmica temporal de redes funcionais, através de fMRI, durante uma tarefa de repouso e outra de movimento, onde os participantes teriam de realizar uma sequência de pressões de um botão na presença de um estímulo visual, alternando entre a mão direita e esquerda [58]. Sendo que o objetivo principal consistia em analisar as latências entre a SMA e outras regiões nas duas tarefas. Os seus resultados demonstraram que no repouso, a ativação da SMA antecedia a do precuneus, parietal inferior, M1 e S1 ipsilaterais, e na tarefa de movimento, as regiões motoras e pré-motoras. Foi também verificado que houve uma maior latência entre a SMA e as regiões como o M1 esquerdo e córtex pré-motor dorsal na tarefa motora em comparação com o repouso, enquanto que na comparação oposta, a latência estava associada ao parietal superior esquerdo. Estes resultados vão ao encontro dos obtidos no presente estudo, principalmente nas tarefas de repouso e bandas de frequência de 0.027-0.073 Hz, e 0.07 - 0.13 Hz. Neste estudo de Sun et al., estes indicaram ainda que havia uma tendência para um aumento da latência entre as regiões do hemisfério esquerdo para o direito no repouso, e de regiões anteriores para posteriores durante a tarefa motora.

Apesar de no presente estudo não ser possível determinar o grau de latência entre pares de regiões, verifica-se que as diferenças de fase mais significativas no repouso estão localizadas no hemisfério direito para regiões consideradas como o ponto de partida da atividade cerebral nos circuitos registados na literatura, como os gânglios basais e tálamo, enquanto que as regiões finais destes circuitos, como o M1, apresentam resultados mais significativos no hemisfério esquerdo.

Em 2014, Mitra et al. também examinaram a latência das flutuações BOLD de fMRI no repouso, e em particular, encontraram diferenças entre ter os olhos abertos ou fechados; no estado de repouso entre ser antes ou depois de uma tarefa motora; e da altura do dia (manhã ou tarde) [135]. Os seus resultados verificaram que na DMN, a atividade partia do cíngulo posterior/precuneus e terminava no córtex pré-frontal ventromedial; na rede *salience* começava no cíngulo anterior e terminava na insula anterior; e na rede fronto-parietal, começava no parietal posterior e terminava no córtex pré-frontal dorsolateral. Os resultados associados à tarefa motora sugeriram ainda que as alterações na latência depois da *performance* de uma tarefa motora refletem processos fisiológicos relacionados com a aprendizagem, mesmo na realização de uma tarefa simples como pressionar um botão aquando um estímulo. Este processo de aprendizagem levou a uma aumento da atividade no putâmen esquerdo. No entanto, nos resultados do estudo presente não se verificou de forma significativa esse aumento.

Garg e os colegas verificaram que as partes inferior do parietal e posterior do cíngulo eram fontes de propagação da atividade [136]. Os resultados deste estudo vão ao encontro do que foi obtido por Deshpande et al., que verificaram que a DMN era o maior *locus* da atividade cerebral, e ainda, que o córtex pré-frontal anterior era um sorvedouro na atividade propagada [137]. Murphy e os colegas, provaram ainda que áreas primárias (como o córtex somatosensorial primário, por exemplo) tendem a ser fontes de atividade cerebral, enquanto que áreas de nível mais elevado como o lobo parietal, tendem a ser sorvedouro no repouso e na realização de tarefas. Os resultados obtidos nesta tese vão ao encontro deste estudo, onde podemos ver um grande número de ligações entre o M1, por exemplo, e regiões do lobo parietal das duas bandas de maior frequência.

No estudo realizado por Sridharan et al., em 2008, estes revelaram que o sinal de fMRI no córtex fronto-insular (inclui a insula anterior e o córtex pré-frontal ventrolateral direito) e no cíngulo anterior, antecedião a atividade das regiões das redes DMN e central executiva (inclui o córtex pré-frontal ventromedial e parietal posterior) [138]. Para além disto, estas duas áreas cerebrais aparecem co-ativas, não apresentando assim latências significativas, o que confirma os resultados obtidos. Ambas as regiões estão ainda envolvidas conjuntamente em processos cognitivos e de atenção.

4.2.2 Análise das medidas de grafos

A segunda parte deste capítulo está associada à utilização das medidas de grafos binárias sobre as 32 regiões cerebrais pré-selecionadas, 3 medidas de conectividade e 3

bandas de frequência. Para tal, foi utilizado o painel de cálculo e construção de redes do GraphVar, com os seguintes limites relativos: 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 e 0.5. Os resultados que se seguem correspondem mais uma vez às comparações entre o SELF e as restantes tarefas: REST1, REST2 e VISUAL, e serão apresentadas somente as regiões cujo *p-value* é significativo (nível de significância = 0.05). Foi também aplicada a correção de *Random Networks/Groups* aos *p-values* obtidos. As medidas topológicas de grafos calculadas foram o grau do nó e a eficiência global.

4.2.2.1 Grau do nó

Tendo em conta a quantidade de resultados relativos a esta métrica de grafo, optou-se por apresentar neste capítulo só um exemplo, neste caso o da banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz da medida de fase, e colocar as restantes matrizes em anexo.

Resultados de Magnitude

- **Banda de Frequência: 0.01-0.027 Hz**

Estes resultados encontram-se na figura I.1, do anexo I.

Nas comparações onde o REST1 e REST2 > SELF observou-se que as regiões que mais se destacam, por apresentarem um elevado grau do nó em quase todos os limites, são o precuneus bilateral e o M1, a insula e tálamo esquerdos. Na comparação oposta há que salientar a insula direita, núcleo caudado, precuneus e cíngulo anterior, medial e posterior esquerdos.

Nos resultados associados à tarefa do VISUAL observa-se que quando este é superior ao SELF, a região que possui um grau do nodo mais significativo é o calcarino bilateral, e no caso contrário, o putâmen e núcleo caudado esquerdos, e ainda, o parietal inferior direito.

- **Banda de Frequência: 0.027-0.073 Hz**

Estes resultados encontram-se na figura I.2, do anexo I.

Os resultados desta banda de frequência mostraram-se bastante semelhantes aos anteriores, sendo só de salientar o aumento do grau do nó na parte opercular do giro frontal inferior esquerdo quando REST1, REST2 > SELF, e parte direita na comparação oposta, juntamente com o tálamo direito. Contudo, não houve quaisquer resultados significativos nas comparações entre o VISUAL e o SELF.

- **Banda de Frequência: 0.07-0.13 Hz**

Estes resultados encontram-se na figura I.3 do anexo I.

Nesta banda de frequência observa-se que as regiões que apresentam um maior grau do nó são as mesmas que as referidas nas bandas de frequência anteriores, pelo que a única diferença encontrada, está no aumento do número de limites onde estas aparecem. Tal

como nos resultados precedentes, verifica-se que a maior parte das regiões do hemisfério direito estão associadas a um grau do nó superior no SELF, comparativamente às tarefas de repouso, e no hemisfério esquerdo, caso contrário.

Nos resultados do VISUAL>SELF destaca-se o M1 e S1 contralaterais, e na comparação oposta, o cíngulo posterior bilateral, S1 e núcleo caudado direitos.

Resultados de Fase

- **Banda de Frequência: 0.01-0.027 Hz**

Estes resultados encontram-se na figura III.1, do anexo III.

Os resultados relativos à fase nesta banda de frequência foram bastante escassos, sendo que os únicos que se destacam são os associados à comparação com REST1>SELF, salientando-se o cíngulo anterior bilateral, insula, S1 e putâmen direitos, e na comparação oposta, o núcleo caudado direito.

- **Banda de Frequência: 0.027-0.073 Hz**

Estes resultados encontram-se na figura III.2, do anexo III.

Observa-se um aumento do número de regiões com grau do nó significativo na comparação entre as tarefas de repouso e o SELF, sendo que com o VISUAL não houve qualquer resultado. Quando REST1 e REST2>SELF salienta-se a insula, SMA, cíngulo medial e putâmen ipsilaterais e, núcleo caudado, globo pálido e tálamo contralaterais. Na comparação oposta as regiões com maior grau do nó foram o parietal superior e inferior direitos, precuneus, núcleo caudado, globo pálido, tálamo e S1 contralaterais.

- **Banda de Frequência: 0.07-0.13 Hz**

Estes resultados encontram-se na figura 4.12.

Nesta banda de frequência verifica-se que para além das regiões já mencionadas anteriormente, há a envolvimento do M1, parte opercular do giro frontal inferior, S1, parietal inferior e putâmen contralaterais quando REST1, REST2> SELF. Na comparação oposta, houve uma maior grau do nó para o M1 e parte opercular do giro frontal inferior ipsilaterais. A preferência das tarefas de repouso para o hemisfério esquerdo, e do SELF para o hemisfério direito, que se observava nos resultados da análise das matrizes de conectividade (secção 4.2.1.4), também se encontra bastante evidente aqui.

Quanto aos resultados do VISUAL>SELF o núcleo caudado bilateral é a região que apresenta grau do nó mais significativo. No SELF>VISUAL surgem as áreas do cíngulo posterior e parte opercular do giro frontal inferior ipsilaterais.

Resultados de *Phase-Locking*

- **Banda de Frequência: 0.01-0.027 Hz**

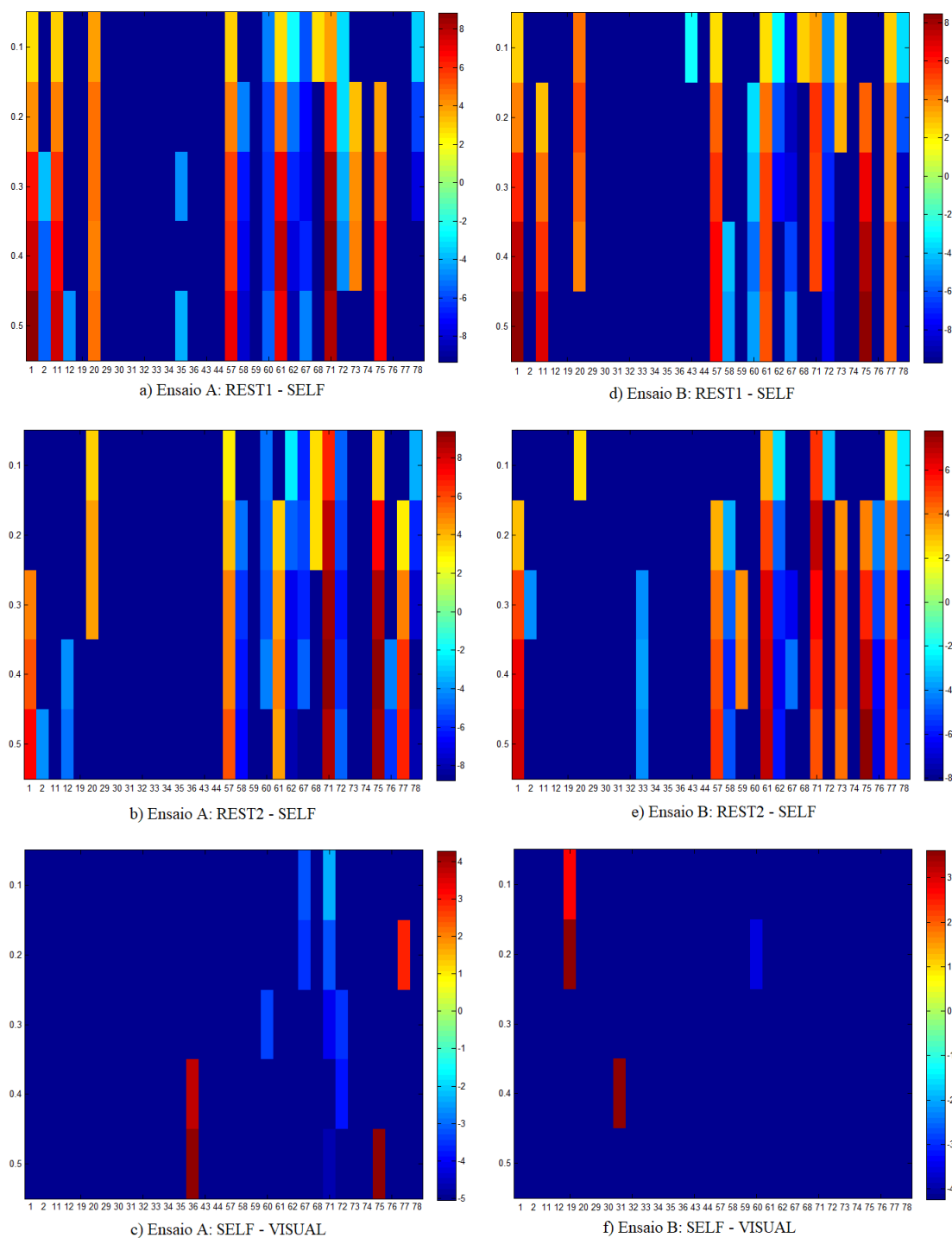


Figura 4.12: Matrizes de fase referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens do lado esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respectivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo.

Estes resultados encontram-se na figura II.1, do anexo II.

Quanto aos resultados de *phase-locking*, as regiões com grau do nó mais significativo para grande parte dos limites no REST1, REST2 > SELF são o M1 e tálamo contralaterais,

e parietal inferior, globo pálido e cíngulo anterior ipsilaterais. Na comparação oposta, destaca-se o cíngulo medial esquerdo. Quando VISUAL>SELF observa-se mais uma vez o calcarino bilateral, e para SELF>VISUAL, o putâmen e globo pálido contralaterais.

- **Banda de Frequência: 0.027-0.073 Hz**

Estes resultados encontram-se na figura II.2, do anexo II.

Nesta banda de frequência quando REST1, REST2>SELF observa-se um elevado grau do nó para o M1, a parte opercular do giro frontal inferior e tálamo contralaterais, e ainda, núcleo caudado e parietal inferior ipsilaterais. Na comparação oposta, temos a parte opercular do giro frontal inferior ipsilateral e o cíngulo médio esquerdo.

Na tarefa do VISUAL a maior parte dos resultados observados é quando o SELF é superior a este, sendo que as regiões de maior significância são o cíngulo anterior, parte inferior do lobo parietal e putâmen contralaterais.

- **Banda de Frequência: 0.07-0.13 Hz**

Estes resultados encontram-se na figura II.3, do anexo II.

Os resultados desta banda de frequência vão ao encontro dos anteriores, onde se verifica uma maior predominância de regiões no hemisfério esquerdo quando o REST1, REST2 >SELF, e do hemisfério direito quando o SELF>REST1, REST2.

Relativamente ao SELF>VISUAL, temos a envolvimento do cíngulo posterior e globo pálido bilaterais, núcleo caudado direito. No oposto observa-se a insula e calcarino bilaterais.

Discussão dos resultados do grau do nó:

Ao observar globalmente todos os resultados das medidas de conectividade, constata-se que há uma grande semelhança entre as regiões com maior grau do nó e aquelas que apresentavam várias conexões com outras regiões nos resultados da análise das matrizes de conectividade (secção 4.2.1). Para além disso, também se observa aqui o padrão de alternância entre inibição e excitação nos dois hemisférios de uma dada região, confirmando a robustez deste fenómeno.

Comparativamente aos resultados nos trabalhos anteriores de magnitude [28] e *phase-locking* [27], houve bastantes semelhanças, nomeadamente o facto de haver mais regiões com elevado grau do nó no hemisfério direito quando o SELF apresentava maior conectividade que as tarefas de repouso, e vice-versa.

Em particular, num estudo realizado por Rzucidlo et al. em 2013, estes verificaram que o grau do nó no precuneus e no córtex pré-frontal dorsolateral eram alterados em função do estado de certas tarefas [139]. Revelando que era de esperar que o precuneus aumentasse o seu grau do nó durante o estado em que está altamente ativo, e reduzindo o número de conexões durante alguma tarefa onde não seja tão relevante. O que justifica o elevado grau do nó no repouso no estudo presente. Para além disso, Moussa et al. também tinham provado que o grau do nó aumentava fortemente do repouso para a tarefa, caso a região em estudo fosse responsável pela mesma [140].

4.2.2.2 Eficiência Global

Os únicos resultados significativos obtidos com esta medida foram para a banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz e comparação SELF>VISUAL. Nas figuras onde estão apresentados estes resultados, é possível identificar os limites significativos através do círculo pintado a azul.

Resultados de Magnitude

Estes resultados encontram-se na figura 4.13.

Pela observação dos resultados obtidos, verifica-se um aumento no limite para o qual é conseguido o valor máximo de eficiência global quando se passa do ensaio A (limite=0.2) para o ensaio B (limite=0.3). O limite obtido no ensaio A vai ao encontro dos resultados obtidos no trabalho anterior cuja medida de conectividade era a magnitude.

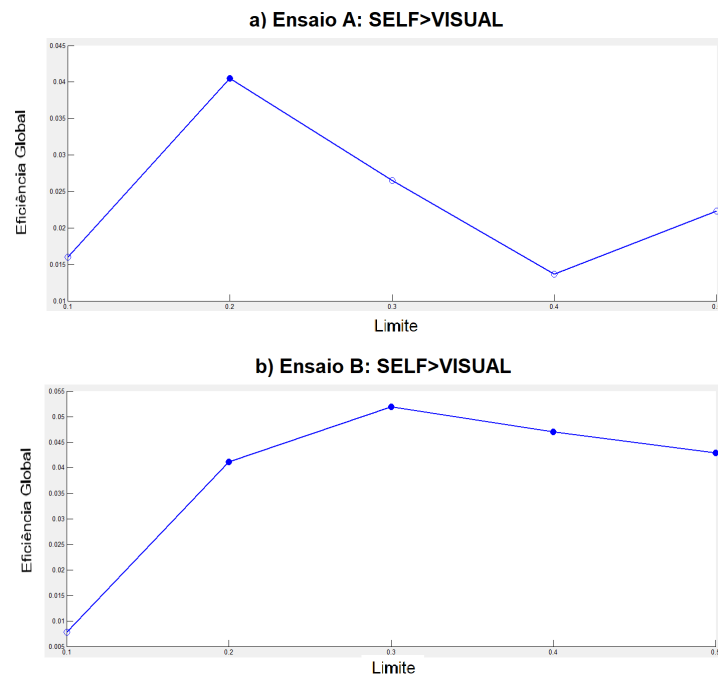


Figura 4.13: Resultados de magnitude referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz, considerando a medida de eficiência global. A imagem de cima diz respeito ao ensaio A, e a de baixo ao ensaio B.

Resultados de Fase

Estes resultados encontram-se na figura 4.14.

Os resultados de fase foram bastante consistentes entre os ensaios, verificando-se que o maior valor de eficiência global é obtido com um limite de 0.3.

Resultados de *Phase-Locking*

Estes resultados encontram-se na figura 4.15.

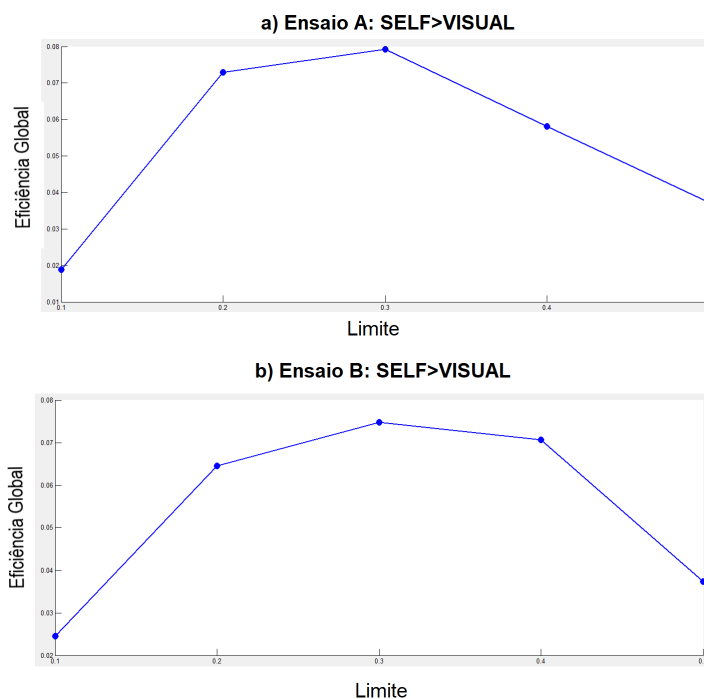


Figura 4.14: Resultados de fase referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz, considerando a medida de eficiência global. A imagem de cima diz respeito ao ensaio A, e a de baixo ao ensaio B.

Como é possível observar, o maior valor encontrado no ensaio A foi de 0.2, enquanto que no ensaio B, foi de 0.3. Comparativamente aos resultados obtidos no estudo anterior com esta medida de *phase-locking* (limite = 0.2), onde também foi identificada uma maior eficiência global na tarefa do SELF em relação ao VISUAL, notou-se uma subida no limite para o qual é obtida a eficiência global máxima da rede com a aplicação do método presente.

Discussão dos resultados da eficiência global:

De um modo geral, e relativamente ao ensaio B, observa-se uma forte reprodutibilidade entre as diferentes medidas de conectividade.

A ausência de resultados entre o SELF e as tarefas de repouso vai ao encontro do estudo de Rzucidlo et al., que demonstrou que a eficiência global não alterava significativamente entre o estado de repouso e uma tarefa associada à memória de trabalho [139]. O facto de se obter uma eficiência global superior no SELF em comparação ao VISUAL, é justificado por estudos que provaram que a existência de uma maior eficiência global na rede na presença de tarefas cognitivas mais complexas [141].

4.3 Comparação entre BOLD e intervalo RR

Os resultados que serão apresentados nesta secção dizem respeito à implementação da metodologia 3, onde foi calculada a coerência entre o sinal BOLD e o intervalo de

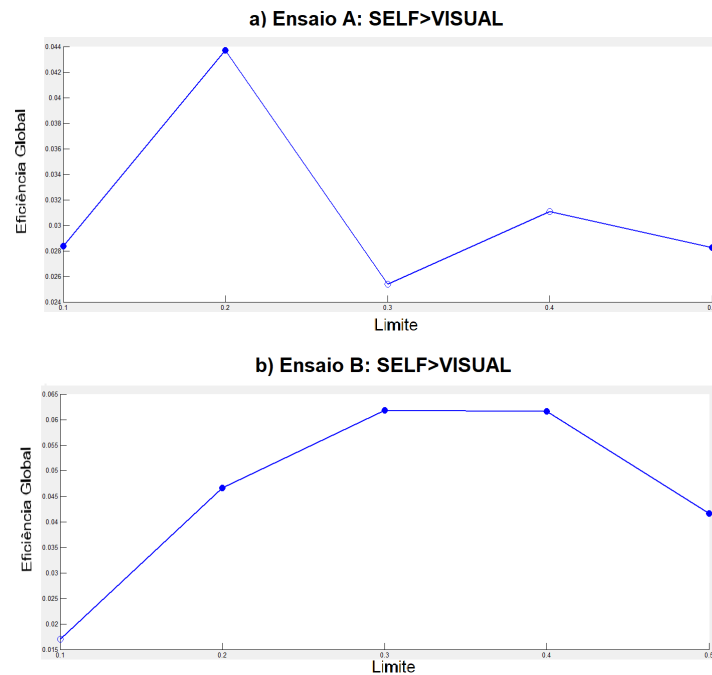


Figura 4.15: Resultados de *phase-locking* referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz, considerando a medida de eficiência global. A imagem de cima diz respeito ao ensaio A, e a de baixo ao ensaio B.

batimentos cardíacos da frequência cardíaca, para as 3 bandas de frequência e 3 medidas: magnitude, *phase-locking* e fase. Estes serão apresentados na forma de tabelas, onde só serão indicadas as regiões consideradas como significativas, de acordo com o nível de significância de 0.05 do teste de Wilcoxon não-paramétrico. Para além disso, e tendo em conta que as matrizes BOLD já foram apresentadas anteriormente (secção 4.2.1), optou-se por colocar apenas um exemplo da coincidência entre esses resultados e os da análise presente. O exemplo escolhido refere-se à medida de fase e banda de frequência entre 0.07 e 0.13 Hz.

4.3.1 Resultados de Magnitude

Estes resultados encontram-se na tabela 4.1.

De todas as regiões que se encontram nesta tabela, apenas algumas coincidem com as já mencionadas na análise das matrizes BOLD. Relacionados com o REST1 temos a insula, parte opercular do giro frontal inferior e putâmen ipsilaterais, e todas as regiões relativas ao ensaio B e banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz. Quanto ao REST2 há a envolvimento do cíngulo medial esquerdo, tálamo e parte opercular do giro frontal inferior direitos.

4.3.2 Resultados de *Phase-Locking*

Estes resultados encontram-se na tabela 4.2.

Tabela 4.1: Resultados relativos à Magnitude, baseados na coerência entre o sinal BOLD e intervalo de batimentos cardíacos da frequência cardíaca, para ambos os ensaios e 3 bandas de frequência

Bandas de Frequência	Ensaio	REST1	REST2
0.01 - 0.027 Hz	A	-	<i>SELF</i> < <i>REST2</i> : Frontal Inf. Oper. (HE) SMA(HE/HD) Cíngulo medial (HE) Cíngulo posterior (HE/HD) Calcarino (HE) S1 (HE) Tálamo (HE/HD)
	B	<i>SELF</i> < <i>REST1</i> : Insula (HE)	-
0.027 - 0.073 Hz	A	<i>SELF</i> > <i>REST1</i> : Frontal Inf. Oper. (HD) Parietal Inferior (HD)	<i>SELF</i> < <i>REST2</i> : Putâmen (HE)
	B	<i>SELF</i> > <i>REST1</i> : Putâmen (HD) <i>SELF</i> < <i>REST1</i> : Tálamo (HE)	<i>SELF</i> > <i>REST2</i> : Putâmen (HD)
0.07 - 0.13 Hz	A	<i>SELF</i> > <i>REST1</i> : Frontal Inf. Oper. (HD)	<i>SELF</i> > <i>REST2</i> : Frontal Inf. Oper. (HD) Putâmen (HD)
	B	<i>SELF</i> < <i>REST1</i> : M1 (HE) Frontal Inf. Oper. (HE) Insula (HE) Cíngulo Anterior (HE) Cíngulo Posterior (HE) S1 (HE)	<i>SELF</i> > <i>REST2</i> : S1 (HD)

Comparando os resultados obtidos, com aqueles da secção 4.2.1, verifica-se que as regiões coincidentes são: REST1 - parte opercular do giro frontal inferior bilateral, M1 e insula contralaterais; REST2 - insula contralateral e, parte opercular do giro frontal inferior e putâmen ipsilaterais.

Tabela 4.2: Resultados relativos ao *Phase-locking*, baseados na coerência entre o sinal BOLD e intervalo de batimentos cardíacos da frequência cardíaca, para ambos os ensaios e 3 bandas de frequência

Bandas de Frequência	Ensaio	REST1	REST2
0.01 - 0.027 Hz	A	<i>SELF<REST1</i> : Parietal Superior (HE/HD) Parietal Inferior (HE)	<i>SELF<REST2</i> : M1 (HE) Frontal Inf. Oper. (HE) SMA(HE) Insula(HE) Cíngulo medial (HE/HD) Cíngulo posterior (HE) Calcarino (HD) Parietal Superior (HE/HD) Parietal Inferior (HE) Precuneus (HE) Núcleo caudado (HE) Globo pálido (HD)
	B	-	<i>SELF>REST2</i> : M1 (HE) SMA (HE/HD) Insula (HE) Núcleo caudado (HD) Putâmen(HD)
0.027 - 0.073 Hz	A	-	<i>SELF<REST2</i> : Cíngulo Anterior (HD)
	B	<i>SELF<REST1</i> : Tálamo (HE)	-
0.07 - 0.13 Hz	A	<i>SELF>REST1</i> : Frontal Inf. Oper. (HD)	<i>SELF>REST2</i> : Frontal Inf. Oper. (HD) Putâmen (HD)
	B	<i>SELF<REST1</i> : M1 (HE) Frontal Inf. Oper. (HE) Insula (HE) Cíngulo Medial (HD) Núcleo caudado (HD)	<i>SELF <REST2</i> : Insula (HE) Cíngulo Anterior (HE)

4.3.3 Resultados de Fase

Estes resultados encontram-se na tabela 4.3.

Na figura 4.16 é possível observar a semelhança entre as conexões obtidas na análise das matrizes de conectividade BOLD com os resultados da interação entre sinal BOLD e cardíaco, considerando a banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz. As semelhanças encontradas entre os resultados de ambas as análises foram: REST1 - cíngulo anterior bilateral,

Tabela 4.3: Resultados relativos à fase, baseados na coerência entre o sinal BOLD e intervalo de batimentos cardíacos da frequência cardíaca, para ambos os ensaios e 3 bandas de frequência

Bandas de Frequência	Ensaio	REST1	REST2
0.01 - 0.027 Hz	A	SELF<REST1: Insula(HE) Cíngulo Anterior (HE/HD) Calcarino (HE/HD) Precuneus (HE/HD) Globo pálido (HE)	SELF<REST2: Cíngulo anterior (HE) Cíngulo medial (HE)
	B	SELF > REST1: Núcleo caudado (HD)	-
0.027 - 0.073 Hz	A	-	SELF>REST2: Núcleo caudado (HE)
	B	SELF<REST1: Tálamo (HE) SELF>REST1: Frontal Inf. Oper. (HD)	SELF > REST2: Frontal Inf. Oper. (HD) Núcleo caudado (HD)
0.07 - 0.13 Hz	A	SELF>REST1: Putâmen (HE)	SELF>REST2: Cíngulo posterior (HE) S1 (HD) Parietal Superior (HE/HD) Globo Pálido (HE) Tálamo (HE)
	B	SELF>REST1: SMA (HD) S1 (HE)	SELF > REST2: M1 (HE) Cíngulo posterior (HE) Calcarino (HD) Núcleo caudado (HE) Globo pálido (HE)

núcleo caudado e SMA ipsilaterais, tálamo, putâmen e S1 contralaterais; REST2 - núcleo caudado esquerdo e todas as regiões indicadas na banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz.

4.3.4 Discussão dos resultados

De um modo geral, ao observar os resultados das 3 medidas utilizadas, verifica-se que as áreas mais robustas, onde houve diferenças entre as tarefas de repouso e o SELF nos sinais BOLD e cardíaco, foram: a insula, a parte opercular do giro frontal inferior, as

4.3. COMPARAÇÃO ENTRE BOLD E INTERVALO RR

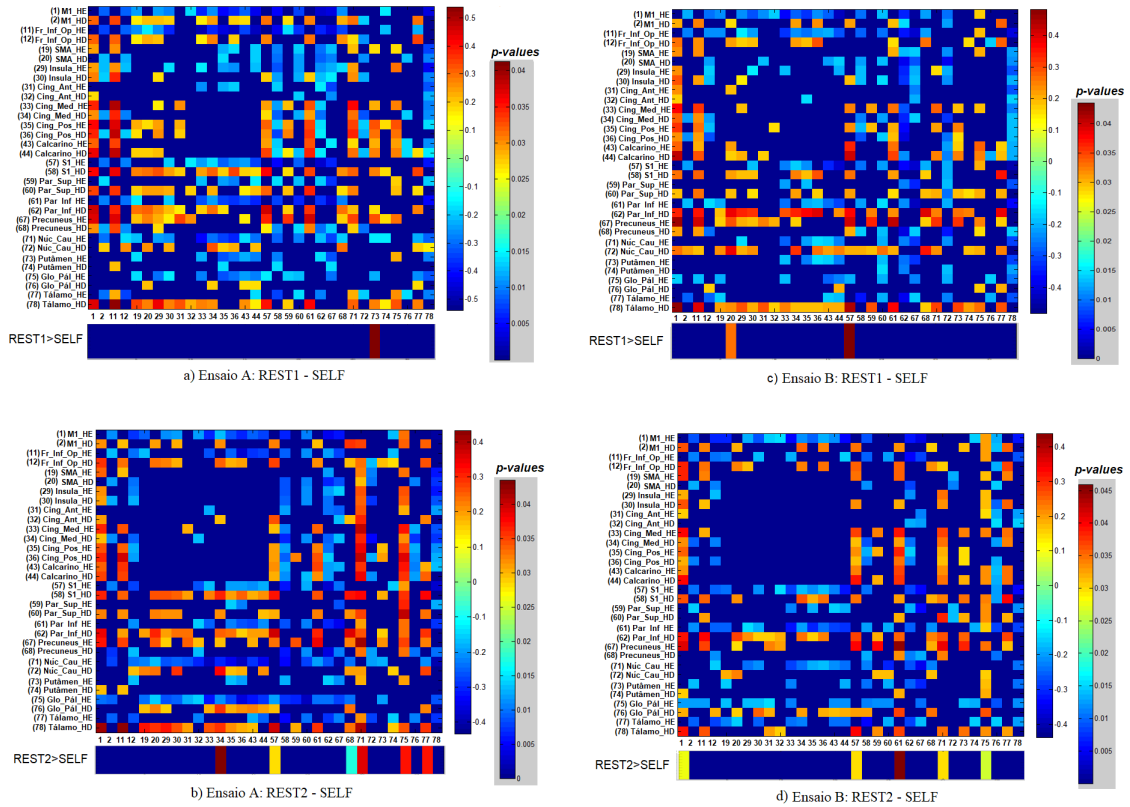


Figura 4.16: Resultados das matrizes obtidas na análise BOLD (matrizes quadradas, já ilustrada na secção 4.2.1.4) e o respetivo resultado das diferenças de fase da coerência entre o sinal BOLD e o intervalo RR com o teste de Wilcoxon, que foi sempre mais significativo nas tarefas de repouso em comparação com o SELF. No lado direito de cada uma das quatro imagens, observa-se a escala de cores relativa aos *p-values* obtidos na análise da interação entre os sinais BOLD e cardíaco. Banda de frequência utilizada: 0.07-0.13 Hz.

partes anterior e medial do cíngulo e o putâmen.

A insula, como já foi referido na discussão dos resultados das matrizes BOLD, para além de estar envolvida na iniciação de movimentos voluntários, encontra-se ativa durante o controlo pré-frontal de funções cardíacas [142], o que justifica o seu aparecimento nos resultados obtidos, principalmente nas medidas de magnitude e *phase-locking*. Esta envolvência da insula no controlo cardiovascular foi demonstrado por outros estudos. Por exemplo, Critchley et al., estudaram o controlo central da função cardiovascular através de PET, e verificaram que a insula, o cíngulo anterior e o córtex pré-frontal ventromedial/orbitofrontal eram das regiões envolvidas na mediação das mudanças na excitação cardiovascular [143]. Para além disso, referiram que era através destas que os sistemas cerebrais cognitivos e somatomotores são integrados com o sistema nervoso autónomo para fornecer o suporte metabólico para a emoção, ação e pensamento.

O aparecimento da insula e cíngulo anterior nestes estudos faz todo o sentido, uma vez que ambas em conjunto com a gânglia basal (núcleo caudado e putâmen) e o tálamo, como

o córtex pré-frontal, formam o circuito límbico anterior, que regula o comportamento emocional e a tomada de decisão [144]. Por estas razões, justifica-se o surgimento destas regiões nos resultados obtidos.

O cíngulo medial é outra das regiões associadas ao controlo da função cardíaca, apresentando conexões funcionais com áreas sensoriais motoras e visuais, daí o envolvimento do calcarino, S1 e M1 [145], [146]. Num estudo realizado por Pfurtscheller et al. em 2016, estes sugeriram que as oscilações BOLD intrínsecas (perto de 0.1 Hz) são originadas no cíngulo medial ou na sua vizinhança, contribuindo para a variabilidade da frequência cardíaca [147].

Em 2001, Lane et al. investigaram as origens neuronais da variabilidade da frequência cardíaca na emoção, e concluíram que o córtex pré-frontal (em particular, o medial) era uma das áreas envolvidas neste fenómeno [148]. Num estudo realizado por Pfurtscheller et al., onde estes analisaram o acoplamento de fase entre as oscilações lentas da pressão arterial (ondas Mayer) e oscilações da Hemoglobina oxigenada do córtex pré-frontal, concluiu-se que a iniciação de movimentos em livre-arbítrio poderia estar relacionada com alterações das ondas Mayer [7].

Relativamente à vascularização destas regiões por artérias importantes, sabe-se que o cíngulo posterior, insula e parte opercular do giro frontal inferior são vascularizados por ramificações da artéria cerebral medial, o tálamo das artérias cerebral e comunicante posteriores, a glândula basal por ramos da artéria cerebral medial e anterior. As diferenças de fase que se observam nestas regiões poderão então estar associadas às diferenças temporais decorrentes da deslocação de oscilações lentas de artérias cerebrais (como a artéria cerebral medial) para pequenos vasos [147].

Esta semelhança nos resultados da coerência entre dois sinais BOLD, e um sinal BOLD com um de intervalo RR da frequência cardíaca, que se dá essencialmente nas regiões do hemisfério esquerdo, segunda tarefa de repouso e banda de frequência de 0.07-0.13 Hz, vem reforçar a hipótese de que as oscilações lentas, sobretudo com frequências próximas de 0.1 Hz, têm tanto um papel na modulação do ritmo cardíaco, como na intervenção nos mecanismos subjacentes à iniciação de movimento em livre-arbítrio.

CONCLUSÃO E TRABALHO FUTURO

5.1 Conclusão

Poucos problemas atraem tanto interesse na comunidade neurocientífica como a iniciação de movimentos em livre-arbítrio. A dificuldade do seu estudo a nível experimental tem impedido a total compreensão dos mecanismos cerebrais envolvidos. No entanto, e dado o grande desenvolvimento de técnicas não invasivas nas últimas décadas, como é o caso da fMRI, tem sido possível identificar as redes neuronais que estão na base da preparação deste tipo de ações.

O estudo presente veio assim contribuir para uma melhor compreensão destes processos cognitivos tão complexos, através de uma análise localizada no tempo (em vez de usar toda a série temporal BOLD), onde foi feito o cálculo de três medidas de conectividade funcional: magnitude, fase e *phase-locking* da coerência da transformada de Wavelet. Desta forma, conseguiu-se identificar os diferentes circuitos neuronais envolvidos nas tarefas de repouso, movimento livre e com estímulo visual. Para além disso, também foi estudada, em todas as metodologias implementadas, a influência das oscilações lentas de frequência entre 0.01 e 0.1 Hz, dada a forte predominância destas oscilações em sinais fisiológicos e o seu papel na iniciação de ações voluntárias.

Relativamente aos resultados obtidos nas comparações com as matrizes de conectividade, verificou-se que houve um número muito reduzido de conexões significativas na análise entre "Movimento" e "Não Movimento" das tarefas motoras, o que na verdade poderá estar relacionado com o critério de convolução escolhido para separar os diversos instantes.

A grande semelhança que se observou entre muitos dos resultados da magnitude e *phase-locking* poderá ser justificada pelo facto do mecanismo de comunicação através

da coerência implicar *phase-locking*, parecendo plausível supor que a conectividade inter-regional seja acompanhada quer por um maior recrutamento neuronal, levando a uma amplitude de oscilação superior, quer por uma elevada coerência de fase [107]. De um modo geral, as conexões na banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz apresentaram maior conectividade nas tarefas de repouso em comparação com o movimento livre, enquanto que nas restantes bandas verificou-se o contrário. De entre as áreas de maior destaque ao longo de todos os resultados, estão a parte opercular do giro frontal inferior, onde se salientou o seu papel em processos cognitivos de inibição, e o tálamo, que tem sido identificado mais recentemente como envolvido na preparação destes movimentos.

O cálculo das diferenças de fase, que nunca tinha sido utilizado nestes dados, permitiu investigar as latências significativas nos tempos de ativação entre as regiões, revelando ser uma componente bastante importante na determinação de como diversas áreas interagem entre si dentro de uma rede, e qual a sequência de processos cognitivos dentro da rede, apesar de com esta análise não ser possível determinar a direcionalidade da atividade neuronal.

A utilização de medidas de grafos também foi um ponto importante, uma vez que permitiu extrair características distintas sobre as redes neuronais analisadas, e confirmar o aparecimento de certas áreas nos resultados das matrizes de conectividade, como é o caso dos gânglios basais e SMA.

O estudo da interação entre sinal cardíaco e BOLD permitiu corroborar o envolvimento de diversas regiões fortemente referenciadas no controlo da função cardiovascular, como a insula e o cíngulo anterior, e reforçar a hipótese de que as oscilações lentas (de 0.1 Hz, aproximadamente), têm o duplo papel de modular o ritmo cardíaco e de intervir nos mecanismos de geração de movimentos iniciados em livre-arbítrio.

Globalmente, foram alcançados os objetivos pré-estabelecidos nesta dissertação, que contribuiu para uma caracterização mais abrangente dos circuitos neuronais envolvidos na preparação e execução de movimentos voluntários. As três metodologias implementadas com base na coerência de Wavelet demonstraram um forte potencial no estudo de conectividade funcional no cérebro, ao permitirem uma análise mais completa da mesma. O GraphVar também se revelou uma ferramenta bastante importante, principalmente pela componente de caracterização topológica de grafos.

5.2 Trabalho Futuro

A implementação de um novo critério de separação entre os instantes considerados como "Movimento" e "Não Movimento" nas tarefas motoras, poderá ser um dos trabalhos futuros relacionados com este tema. A escolha de um critério mais seletivo, com base em etapas específicas do movimento, como a preparação, tomada de decisão e execução do mesmo, por exemplo, pode ser uma boa alternativa ao método utilizado nesta tese.

Para além disso, o cálculo de novas métricas de grafos, como o coeficiente de *clustering* e a identificação de *hubs*, poderá levar a uma melhor compreensão do papel de cada região

nas redes neuronais em estudo.

Outra hipótese poderia ser o aprofundamento do estudo da interação entre sinal BOLD e sinal do intervalo RR da frequência cardíaca, focando a análise na frequência principal da série RR mediante análise espectral prévia, uma vez que foram encontradas evidências de que existe uma frequência de oscilação específica a cada pessoa [149].

Um último trabalho poderia consistir na exploração de outras métricas de conectividade, como a causalidade de Granger ou a transferência de entropia [150].

BIBLIOGRAFIA

- [1] C. D. Frith, S. J. Blakemore e D. M. Wolpert, “Abnormalities in the awareness and control of action.”, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 355, n.º 1404, pp. 1771–1788, 2000.
- [2] P. Haggard, “Human volition: towards a neuroscience of will”, *Nature Reviews. Neuroscience*, vol. 9, n.º 12, pp. 934–946, 2008.
- [3] IBEB, *Conetividade e Dinâmica Cerebral*. URL: <http://ibeb.ciencias.ulisboa.pt/pt/brain-connectivity-and-dynamics/> (acedido em 20/09/2017).
- [4] G. Pfurtscheller, A. Andrade, K. Koschutnig, C. Brunner e F. da Silva, “Initiation of voluntary movements at free will and ongoing 0.1-Hz BOLD oscillations in the insula — a pilot study”, *Frontiers in Integrative Neuroscience*, vol. 8, n.º 93, pp. 1–5, 2014.
- [5] B. P. Rogers, V. L. Morgan, A. T. Newton e J. C. Gore, “Assessing functional connectivity in the human brain by fMRI”, *Magnetic resonance imaging*, vol. 25, n.º 10, pp. 1347–1357, 2007.
- [6] M. Lindquist e T. D. Wager, “Principles of functional Magnetic Resonance Imaging”, em *Handbook of Neuroimaging Data Analysis*, H. Ombao, M. Lindquist, W. Thompson e J. Aston, eds., London: CRC Press, 2014, cap. 6, pp. 139–174.
- [7] G. Pfurtscheller, G. Bauernfeind, C. Neuper e F. H. Lopes, “Does conscious intention to perform a motor act depend on slow prefrontal (de) oxyhemoglobin oscillations in the resting brain ?”, *Neuroscience Letters*, vol. 508, n.º 2, pp. 89–94, 2012.
- [8] P. Haggard, “Decision Time for Free Will”, *Neuron*, vol. 69, n.º 3, pp. 404–406, 2011.
- [9] I. Fried, R. Mukamel e G. Kreiman, “Internally Generated Preactivation of Single Neurons in Human Medial Frontal Cortex Predicts Volition”, *Neuron*, vol. 69, n.º 3, pp. 548–562, 2011.
- [10] V. T. Nguyen, M. Breakspear e R. Cunnington, “Reciprocal Interactions of the SMA and Cingulate Cortex Sustain Premovement Activity for Voluntary Actions”, *The Journal of Neuroscience*, vol. 34, n.º 49, pp. 16 397–16 407, 2014.

- [11] H. H. Kornhuber e L. Deecke, "Hirnpotentialänderungen bei Willkürbewegungen und passive Bewegungen des Menschen: Bereitschaftspotential und reafferente Potentiale [Changes in the Brain Potential in Voluntary Movement and Passive Movements in Man: Readiness Potential and Reafferent Pot", *Pflügers Archiv für die gesamte Neurologie*, vol. 284, n.º 1, pp. 1–17, 1965.
- [12] H. Shibasaki e M. Hallett, "What is the Bereitschaftspotential ?", *Clinical Neurophysiology*, vol. 117, n.º 11, pp. 2341–2356, 2006.
- [13] J. A. Trevena e J. Miller, "Cortical movement preparation before and after a conscious decision to move", *Consciousness and cognition*, vol. 11, n.º 2, pp. 162–190, 2002.
- [14] R. Cunnington, R. Iansel, K. A. Johnson e J. L. Bradshaw, "Movement-related potentials in Parkinson ' s disease Motor imagery and movement preparation", *Brain*, vol. 120, n.º 8, pp. 1339–1353, 1997.
- [15] B. Libet, C. A. Gleason, E. W. Wright e D. K. Pearl, "Time of conscious intention to act in relation to onset of cerebral activity (Readiness-Potential)", *Brain*, vol. 106, n.º 3, pp. 623–642, 1983.
- [16] S. Schmidt, H.-g. Jo, M. Wittmann e T. Hinterberger, "'Catching the waves ' – slow cortical potentials as moderator of voluntary action", *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 68, pp. 639–650, 2016.
- [17] P. Haggard e M. Eimer, "On the relation between brain potentials and the awareness of voluntary movements", *Experimental brain research*, vol. 126, n.º 1, pp. 128–133, 1999.
- [18] J. Trevena e J. Miller, "Brain preparation before a voluntary action: Evidence against unconscious movement initiation", *Consciousness and cognition*, vol. 19, n.º 1, pp. 447–456, 2010.
- [19] P. Alexander, A. Schlegel, W. Sinnott-Armstrong, A. L. Roskies, T. Wheatley e P. U. Tse, "Readiness potentials driven by non-motoric processes", *Consciousness and cognition*, vol. 39, pp. 38–47, 2016.
- [20] A. Schlegel, P. Alexander, W. Sinnott-Armstrong, A. Roskies, U. T. Peter e T. Wheatley, "Barking up the wrong tree: readiness potentials reflect processes independent of conscious will", *Experimental brain research*, vol. 229, n.º 3, pp. 329–335, 2013.
- [21] A. Schurger, J. D. Sitt e S. Dehaene, "An accumulator model for spontaneous neural activity prior to self-initiated movement", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 109, n.º 42, E2904–E2913, 2012.
- [22] D. Rigoni, S. Kühn, G. Sartori e M. Brass, "Inducing disbelief in free will alters brain correlates of preconscious motor preparation: The brain minds whether we believe in free will or not", *Psychological science*, vol. 22, n.º 5, pp. 613–618, 2011.

- [23] C. S. Soon, M. Brass e H.-j. Heinze, “Unconscious determinants of free decisions in the human brain”, *Nature neuroscience*, vol. 11, n.º 5, pp. 543–546, 2008.
- [24] R. P. Dum e P. L. Strick, “Motor areas in the frontal lobe of the primate”, *Physiology & behavior*, vol. 77, n.º 4, pp. 677–682, 2002.
- [25] R. Cunnington, C. Windischberger, L. Deecke e E. Moser, “The preparation and readiness for voluntary movement : a high-field event-related fMRI study of the Bereitschafts-BOLD response”, *NeuroImage*, vol. 20, n.º 1, pp. 404–412, 2003.
- [26] R. Cunnington, C. Windischberger, L. Deecke e E. Moser, “The Preparation and Execution of Self-Initiated and Externally- Triggered Movement : A Study of Event-Related fMRI”, *NeuroImage*, vol. 15, n.º 2, pp. 373–385, 2002.
- [27] J. P. M. Santos, “Brain circuits involved in self-paced motion : the influence of 0.1 Hz waves”, Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciência e Tecnologias, 2016.
- [28] J. F. T. Calisto, “The role of slow oscillations on the initiation of spontaneous movement: new methodological approaches”, Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 2016.
- [29] J. T. Bushberg, J. A. Seibert, E. M. Leidholdt, J. M. Boone e E. J. Goldschmidt, *The Essential Physics of Medical Imaging*, 3ª ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2011, pp. 402–447.
- [30] S. J. Holdsworth e R. Bammer, “Magnetic Resonance Imaging Techniques: fMRI, DWI, and PWI”, *Seminars in Neurology*, vol. 28, n.º 4, pp. 395–406, 2008.
- [31] F. Bloch, W. W. Hansen e M. Packard, “The Nuclear Induction Experiment”, *Physical Review*, vol. 70, n.º 7-8, pp. 474–485, 1946.
- [32] E. M. Purcell, H. C. Torrey e R. V. Pound, “Resonance absorption by nuclear moments in a solid”, *Physical Review*, vol. 69, n.º 1-2, pp. 37–38, 1946.
- [33] T. A. Gould e M. Edmonds, *How MRI works*, 2010. URL: <http://science.howstuffworks.com/mri3.htm> (acedido em 10/02/2017).
- [34] D. McRobbie, E. Moore, M. Graves e M. Prince, *MRI - From picture to proton*, 2ª. Cambridge university press, 2007, pp. 30–46.
- [35] A. T. Cacace, T. Tasciyan e J. P. Cousins, “Principles of Functional Magnetic Resonance Imaging : Application to Auditory Neuroscience”, *Journal of the American Academy of Audiology*, vol. 11, n.º 5, pp. 239–272, 2000.
- [36] G. H. Glover, “Overview of Functional Magnetic Resonance Imaging”, *Neurosurgery Clinics of North America*, vol. 22, n.º 2, pp. 133–139, 2012.
- [37] R. B. Buxton, L. R. Frank, E. C. Wong, B. Siewert, S. Warach e R. R. Edelman, “A General Kinetic Model for Quantitative Perfusion Imaging with Arterial Spin Labeling”, *Magnetic resonance in medicine*, vol. 40, n.º 3, pp. 383–396, 1998.

- [38] P. M. Matthews e P. Jezzard, “Functional magnetic resonance imaging”, *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, vol. 75, n.º 1, pp. 6–12, 2004.
- [39] S. Ogawa, T. M. Lee, A. R. Kay e D. W. Tank, “Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 87, n.º 24, pp. 9868–9872, 1990.
- [40] K. Uludag, D. J. Dubowitz e R. B. Buxton, “Basic principles of functional MRI”, *Clinical MRI. Elsevier, San Diego*, pp. 249–287, 2005.
- [41] A. Elster, *BOLD and Brain Activity Does the BOLD response result from the firing of nerve cells?* URL: <http://mriquestions.com/does-boldbrain-activity.html>.
- [42] J. J. Riera, J. Watanabe, I. Kazuki, M. Naoki, E. Aubert, T. Ozaki e R. Kawashima, “A state-space model of the hemodynamic approach : nonlinear filtering of BOLD signals”, *NeuroImage*, vol. 21, n.º 2, pp. 547–567, 2004.
- [43] R. Henson, “Efficient experimental design for fMRI”, em *Statistical parametric mapping. The analysis of functional brain images*, R. S. Frackowiak, J. T. Ashburner, S. J. Kiebel, T. E. Nichols e W. D. Penny, eds., London, 2007, cap. 15, pp. 193–210.
- [44] J. A. Mumford e R. A. Poldrack, “Modeling group fMRI data”, *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, vol. 2, n.º 3, pp. 251–257, 2007.
- [45] A. P. Holmes e K. J. Friston, “Generalisability , Random Effects & Population Inference”, *NeuroImage*, vol. 7, S754, 1998.
- [46] O. Sporns, “Networks of the Brain : Quantitative Analysis and Modeling”, em *Analysis and Function of Large-Scale Brain Networks*, Washington DC: Society for Neuroscience, 2010, pp. 7–13.
- [47] O. Sporns, “Brain connectivity”, *Scholarpedia*, vol. 2, n.º 10, p. 4695, 2007.
- [48] B. Horwitz, “The elusive concept of brain connectivity”, *NeuroImage*, vol. 19, n.º 2, pp. 466–470, 2003.
- [49] K. J. Friston, “Functional and Effective Connectivity in Neuroimaging: A Synthesis”, *Brain Connectivity*, vol. 2, n.º 1-2, pp. 56–78, 1994.
- [50] M. Rubinov e O. Sporns, “Complex network measures of brain connectivity : Uses and interpretations”, *NeuroImage*, vol. 52, n.º 3, pp. 1059–1069, 2010.
- [51] M. P.V. D. Heuvel e H. E. H. Pol, “Exploring the brain network : A review on resting-state fMRI functional connectivity”, *European Neuropsychopharmacology*, vol. 20, n.º 8, pp. 519–534, 2010.
- [52] D. Zhou, W. K. Thompson e G. Siegle, “NeuroImage MATLAB toolbox for functional connectivity”, *NeuroImage*, vol. 47, n.º 4, pp. 1590–1607, 2009.
- [53] A. S. Ribeiro, L. M. Lacerda e H. A. Ferreira, “Multimodal Imaging Brain Connectivity Analysis (MIBCA) toolbox”, *PeerJ*, vol. 3, pp. 1–28, 2015.

-
- [54] O. David, D. Cosmelli e K. J. Friston, "Evaluation of different measures of functional connectivity using a neural mass model", *NeuroImage*, vol. 21, n.° 2, pp. 659–673, 2004.
- [55] B. B. Biswal, "Resting state fMRI : A personal history", *NeuroImage*, vol. 62, n.° 2, pp. 938–944, 2012.
- [56] F. T. Sun, L. M. Miller e M. D. Esposito, "Measuring interregional functional connectivity using coherence and partial coherence analyses of fMRI data", *NeuroImage*, vol. 21, n.° 2, pp. 647–658, 2004.
- [57] J.-p. Lachaux, A. Lutz, D. Rudrauf, D. Cosmelli, M. L. V. Quyen, J. Martinerie e F. Varela, "Estimating the time-course of coherence between single-trial brain signals: an introduction to wavelet coherence", *Neurophysiologie Clinique*, vol. 32, n.° 3, pp. 157–174, 2002.
- [58] F. T. Sun, L. M. Miller e M. D. Esposito, "Measuring temporal dynamics of functional networks using phase spectrum of fMRI data", vol. 28, n.° 1, pp. 227–237, 2005.
- [59] E. Formisano e R. Goebel, "Tracking cognitive processes with functional MRI mental chronometry", *Current opinion in neurobiology*, vol. 13, n.° 2, pp. 174–181, 2003.
- [60] J. P. Lachaux, E. Rodriguez, J. Martinerie e F. J. Varela, "Measuring phase synchrony in brain signals", *Human Brain Mapping*, vol. 8, n.° 4, pp. 194–208, 1999.
- [61] C. Torrence e G. P. Compo, "A practical guide to wavelet analysis", *Bulletin of the American Meteorological society*, vol. 79, n.° 1, pp. 61–78, 1998.
- [62] E. W. Lang, A. M. Tomé, I. R. Keck, J. M. Górriz-Sáez e C. G. Puntonet, "Brain connectivity analysis: a short survey", *Computational intelligence and neuroscience*, vol. 2012, n.° 8, pp. 1–21, 2012.
- [63] N. Tzourio-Mazoyer, B. Landeau, D. Papathanassiou, F. Crivello, O. Etard, N. Delcroix, B. Mazoyer e M. Joliot, "Automated anatomical labeling of activations in SPM using a macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain.", *NeuroImage*, vol. 15, n.° 1, pp. 273–289, 2002.
- [64] D. J. Watts e S. H. Strogatz, "Collective dynamics of 'small-world' networks", *Nature*, vol. 393, n.° 6684, pp. 440–442, 1998.
- [65] D. S. Margulies, J. Böttger, X. Long, Y. Lv, C. Kelly, A. Schäfer, D. Goldhahn, A. Abushii, M. P. Milham, G. Lohmann e A. Villringer, "Resting developments : a review of fMRI post-processing methodologies for spontaneous brain activity", *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*, vol. 23, n.° 5-6, pp. 289–307, 2010.

- [66] E. Bullmore e O. Sporns, "Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems", *Nature reviews. Neuroscience*, vol. 10, n.º 3, pp. 186–198, 2009.
- [67] L. C. Freeman, "A set of measures of centrality based on betweenness", *Sociometry*, vol. 40, n.º 1, pp. 35–41, 1977.
- [68] M. D. Fox, A. Z. Snyder, J. L. Vincent e M. E. Raichle, "Intrinsic Fluctuations within Cortical Systems Account for Intertrial Variability in Human Behavior", *Neuron*, vol. 56, n.º 1, pp. 171–184, 2007.
- [69] B. Biswal, F. Zerrin Yetkin, V. M. Haughton e J. S. Hyde, "Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar mri", *Magnetic resonance in medicine*, vol. 34, n.º 4, pp. 537–541, 1995.
- [70] C. F. Beckmann, M. DeLuca, J. T. Devlin e S. M. Smith, "Investigations into resting-state connectivity using independent component analysis", *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, vol. 360, n.º 1457, pp. 1001–1013, 2005.
- [71] J. S. Damoiseaux, S. Rombouts, F. Barkhof, P. Scheltens, C. J. Stam, S. M. Smith e C. F. Beckmann, "Consistent resting-state networks across healthy subjects", *Proceedings of the national academy of sciences*, vol. 103, n.º 37, pp. 13 848–13 853, 2006.
- [72] M. D. Fox, A. Z. Snyder, J. L. Vincent, M. Corbetta, D. C. Van Essen e M. E. Raichle, "The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 102, n.º 27, pp. 9673–9678, 2005.
- [73] P. Fransson, "Spontaneous low-frequency BOLD signal fluctuations: An fMRI investigation of the resting-state default mode of brain function hypothesis", *Human brain mapping*, vol. 26, n.º 1, pp. 15–29, 2005.
- [74] M. De Luca, C. F. Beckmann, N. De Stefano, P. M. Matthews e S. M. Smith, "fMRI resting state networks define distinct modes of long-distance interactions in the human brain", *Neuroimage*, vol. 29, n.º 4, pp. 1359–1367, 2006.
- [75] R. Salvador, J. Suckling, M. R. Coleman, J. D. Pickard, D. Menon e E. D. Bullmore, "Neurophysiological architecture of functional magnetic resonance images of human brain", *Cerebral cortex*, vol. 15, n.º 9, pp. 1332–1342, 2005.
- [76] M. Van Den Heuvel, R. Mandl e H. H. Pol, "Normalized cut group clustering of resting-state FMRI data", *PloS one*, vol. 3, n.º 4, pp. 1–11, 2008.
- [77] M. E. Raichle, A. M. MacLeod, A. Z. Snyder, W. J. Powers, D. A. Gusnard e G. L. Shulman, "A default mode of brain function", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 98, n.º 2, pp. 676–682, 2001.

-
- [78] M. D. Greicius, B. Krasnow, A. L. Reiss e V. Menon, “Functional connectivity in the resting brain: a network analysis of the default mode hypothesis”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 100, n.º 1, pp. 253–258, 2003.
 - [79] D. A. Gusnard e M. E. Raichle, “Searching for a baseline: functional imaging and the resting human brain”, *Nature reviews. Neuroscience*, vol. 2, n.º 10, pp. 685–694, 2001.
 - [80] Y. Zhou, M. Liang, T. Jiang, L. Tian, Y. Liu, Z. Liu, H. Liu e F. Kuang, “Functional dysconnectivity of the dorsolateral prefrontal cortex in first-episode schizophrenia using resting-state fMRI”, *Neuroscience letters*, vol. 417, n.º 3, pp. 297–302, 2007.
 - [81] R. Cooper, H. J. Crow, W. G. Walter e A. L. Winter, “Regional control of cerebral vascular reactivity and oxygen supply in man”, *Brain research*, vol. 3, n.º 2, pp. 174–191, 1966.
 - [82] M. L. Schroeter, M. M. Bücheler, C. Preul, R. Scheid, O. Schmiedel, T. Guthke e D. Y. Von Cramon, “Spontaneous slow hemodynamic oscillations are impaired in cerebral microangiopathy”, *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, vol. 25, n.º 12, pp. 1675–1684, 2005.
 - [83] K. Shmueli, P. van Gelderen, J. A. de Zwart, S. G. Horovitz, M. Fukunaga, J. M. Jansma e J. H. Duyn, “Low-frequency fluctuations in the cardiac rate as a source of variance in the resting-state fMRI BOLD signal”, *Neuroimage*, vol. 38, n.º 2, pp. 306–320, 2007.
 - [84] D. Mantini, M. G. Perrucci, C. Del Gratta, G. L. Romani e M. Corbetta, “Electrophysiological signatures of resting state networks in the human brain”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 104, n.º 32, pp. 13 170–13 175, 2007.
 - [85] H. P. Koepchen, “Physiology of rhythms and control systems: an integrative approach”, em *Rhythms in physiological systems*, Springer, 1991, pp. 3–20.
 - [86] C. Chang, J. P. Cunningham e G. H. Glover, “Influence of heart rate on the BOLD signal: the cardiac response function”, *Neuroimage*, vol. 44, n.º 3, pp. 857–869, 2009.
 - [87] R. M. Birn, M. A. Smith, T. B. Jones e P. A. Bandettini, “The respiration response function: the temporal dynamics of fMRI signal fluctuations related to changes in respiration”, *Neuroimage*, vol. 40, n.º 2, pp. 644–654, 2008.
 - [88] R. L. Buckner e J. L. Vincent, “Unrest at rest: default activity and spontaneous network correlations”, *Neuroimage*, vol. 37, n.º 4, pp. 1091–1096, 2007.
 - [89] Y. Nir, R. Mukamel, I. Dinstein, E. Privman, M. Harel, L. Fisch, H. Gelbard-Sagiv, S. Kipervasser, F. Andelman e M. Y. Neufeld, “Interhemispheric correlations of slow spontaneous neuronal fluctuations revealed in human sensory cortex”, *Nature neuroscience*, vol. 11, n.º 9, pp. 1100–1108, 2008.

- [90] G. Pfurtscheller, R. Ortner, G. Bauernfeind, P. Linortner e C. Neuper, “Does conscious intention to perform a motor act depend on slow cardiovascular rhythms?”, *Neuroscience Letters*, vol. 468, n.º 1, pp. 46–50, 2010.
- [91] C Lavelle, *What is Brainwave Entrainment*, 2007. URL: <http://www.brainworksneurotherapy.com/what-brainwave-entrainment> (acedido em 02/07/2017).
- [92] Y. Chao-Gan e Z. Yu-Feng, “DPARF: a MATLAB toolbox for “pipeline” data analysis of resting-state fMRI”, *Frontiers in System Neuroscience*, vol. 4, n.º 13, pp. 1–7, 2010.
- [93] R. K. Niazy, C. F. Beckmann, G. D. Iannetti, J. M. Brady e S. M. Smith, “Removal of FMRI environment artifacts from EEG data using optimal basis sets”, *Neuroimage*, vol. 28, n.º 3, pp. 720–737, 2005.
- [94] A. Grinsted, J. C. Moore e S. Jevrejeva, “Application of Cross Wavelet Transform and Wavelet Coherence to Geophysical Time Series”, *Nonlinear Processes in Geophysics*, vol. 11, n.º 5-6, pp. 561–566, 2004.
- [95] H. Wiese, P. Stude, K. Nebel, M. Forsting e A. De Greiff, “Prefrontal cortex activity in self-initiated movements is condition-specific, but not movement-related”, *NeuroImage*, vol. 28, n.º 3, pp. 691–697, 2005.
- [96] J. G. Bednark, M. E. J. Campbell e R. Cunnington, “Basal ganglia and cortical networks for sequential ordering and rhythm of complex movements.”, *Frontiers in human neuroscience*, vol. 9, n.º 421, pp. 1–13, 2015.
- [97] I. H. Jenkins, M. Jahanshahi, M. Jueptner, R. E. Passingham e D. J. Brooks, “Self-initiated versus externally triggered movements. II. The effect of movement predictability on regional cerebral blood flow.”, *Brain : a journal of neurology*, vol. 123, n.º 6, pp. 1216–1228, 2000.
- [98] G. Buzsáki e A. Draguhn, “Neuronal oscillations in cortical networks”, *science*, vol. 304, n.º 5679, pp. 1926–1929, 2004.
- [99] M. Penttonen e G. Buzsáki, “Natural logarithmic relationship between brain oscillators”, *Thalamus & Related Systems*, vol. 2, n.º 2, pp. 145–152, 2003.
- [100] S. R. Gohel e B. B. Biswal, “Functional integration between brain regions at rest occurs in multiple-frequency bands”, *Brain connectivity*, vol. 5, n.º 1, pp. 23–34, 2015.
- [101] S. M. H. Hosseini, F. Hoefft e S. R. Kesler, “Gat: A graph-theoretical analysis toolbox for analyzing between-group differences in large-scale structural and functional brain networks”, *PLoS ONE*, vol. 7, n.º 7, pp. 1–15, 2012.
- [102] A. Zalesky, A. Fornito e E. T. Bullmore, “Network-based statistic: Identifying differences in brain networks”, *NeuroImage*, vol. 53, n.º 4, pp. 1197–1207, 2010.

-
- [103] J. D. Kruschwitz, D. List, L. Waller, M. Rubinov e H. Walter, "GraphVar : A user-friendly toolbox for comprehensive graph analyses of functional brain connectivity", *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 245, pp. 107–115, 2015.
 - [104] S. Huang, J. Li, L. Sun, J. Ye, A. Fleisher, T. Wu, K. Chen e E. Reiman, "Learning brain connectivity of Alzheimer's disease by sparse inverse covariance estimation", *NeuroImage*, vol. 50, n.º 3, pp. 935–949, 2010.
 - [105] F. J. Massey Jr, "The Kolmogorov-Smirnov test for goodness of fit", *Journal of the American statistical Association*, vol. 46, n.º 253, pp. 68–78, 1951.
 - [106] M. Xia, J. Wang e Y. He, "BrainNet Viewer: A Network Visualization Tool for Human Brain Connectomics", *PLoS One*, vol. 8, n.º 7, pp. 1–15, 2013.
 - [107] P. Fries, "A mechanism for cognitive dynamics: neuronal communication through neuronal coherence", *Trends in cognitive sciences*, vol. 9, n.º 10, pp. 474–480, 2005.
 - [108] K. D. Singh e I. P. Fawcett, "Transient and linearly graded deactivation of the human default-mode network by a visual detection task", *Neuroimage*, vol. 41, n.º 1, pp. 100–112, 2008.
 - [109] R. N. Spreng e D. L. Schacter, "Default network modulation and large-scale network interactivity in healthy young and old adults", *Cerebral Cortex*, vol. 22, n.º 11, pp. 2610–2621, 2011.
 - [110] B. A. Vogt e S. Laureys, "Posterior cingulate, precuneal and retrosplenial cortices: cytology and components of the neural network correlates of consciousness", *Progress in brain research*, vol. 150, pp. 205–217, 2005.
 - [111] R. Leech, R. Braga e D. J. Sharp, "Echoes of the brain within the posterior cingulate cortex", *Journal of Neuroscience*, vol. 32, n.º 1, pp. 215–222, 2012.
 - [112] M. Corbetta, G. Patel e G. L. Shulman, "The reorienting system of the human brain: from environment to theory of mind", *Neuron*, vol. 58, n.º 3, pp. 306–324, 2008.
 - [113] J. L. Vincent, I. Kahn, A. Z. Snyder, M. E. Raichle e R. L. Buckner, "Evidence for a frontoparietal control system revealed by intrinsic functional connectivity", *Journal of neurophysiology*, vol. 100, n.º 6, pp. 3328–3342, 2008.
 - [114] A. D. Craig e A. D. Craig, "How do you feel–now? The anterior insula and human awareness.", *Nature reviews neuroscience*, vol. 10, n.º 1, pp. 59–70, 2009.
 - [115] M. F. Mason, M. I. Norton, J. D. Van Horn, D. M. Wegner, S. T. Grafton e C. N. Macrae, "Wandering minds: the default network and stimulus-independent thought", *Science*, vol. 315, n.º 5810, pp. 393–395, 2007.
 - [116] T. Wu, X. Long, L. Wang, M. Hallett, Y. Zang, K. Li e P. Chan, "Functional connectivity of cortical motor areas in the resting state in Parkinson's disease", *Human brain mapping*, vol. 32, n.º 9, pp. 1443–1457, 2011.

- [117] S. Kühn e M. Brass, “When doing nothing is an option: the neural correlates of deciding whether to act or not”, *Neuroimage*, vol. 46, n.º 4, pp. 1187–1193, 2009.
- [118] M. Brass e P. Haggard, “The hidden side of intentional action: the role of the anterior insular cortex”, *Brain Structure and Function*, vol. 214, n.º 5-6, pp. 603–610, 2010.
- [119] H. C. Lau, R. D. Rogers, P. Haggard e R. E. Passingham, “Attention to Intention”, *science*, vol. 303, n.º 5661, pp. 1208–1210, 2004.
- [120] F. Hoffstaedter, C. Grefkes, K. Zilles e S. B. Eickhoff, “The “ What ” and “ When ” of Self-Initiated Movements”, *Cerebral cortex*, vol. 23, n.º 3, pp. 520–530, 2013.
- [121] J Purzner, G. O. Paradiso, D Cunic, J. A. Saint-Cyr, T Hoque, A. M. Lozano, A. E. Lang, E Moro, M Hodaie, F Mazzella e R Chen, “Involvement of the basal ganglia and cerebellar motor pathways in the preparation of self-initiated and externally triggered movements in humans”, *J Neurosci*, vol. 27, n.º 22, pp. 6029–6036, 2007.
- [122] G. Paradiso, D. Cunic, J. A. Saint-Cyr, T. Hoque, A. M. Lozano, A. E. Lang e R. Chen, “Involvement of human thalamus in the preparation of self-paced movement”, *Brain*, vol. 127, n.º 12, pp. 2717–2731, 2004.
- [123] I. Rektor, “Scalp-recorded Bereitschaftspotential is the result of the activity of cortical and subcortical generators – a hypothesis”, *Clinical Neurophysiology*, vol. 113, n.º 12, pp. 1998–2005, 2002.
- [124] H. Wiese, P. Stude, K. Nebel, A. De Greiff, M. Forsting, H. C. Diener e M. Keidel, “Movement preparation in self-initiated versus externally triggered movements: An event-related fMRI-study”, *Neuroscience Letters*, vol. 371, n.º 2-3, pp. 220–225, 2004.
- [125] S. T. Witt, M. E. Meyerand e A. R. Laird, “Functional neuroimaging correlates of finger tapping task variations: An ALE meta-analysis”, *NeuroImage*, vol. 42, n.º 1, pp. 343–356, 2008.
- [126] K. Rubia, A. B. Smith, M. J. Brammer e E. Taylor, “Right inferior prefrontal cortex mediates response inhibition while mesial prefrontal cortex is responsible for error detection”, *Neuroimage*, vol. 20, n.º 1, pp. 351–358, 2003.
- [127] A. R. Aron, P. C. Fletcher, E. T. Bullmore, B. J. Sahakian e T. W. Robbins, “Stop-signal inhibition disrupted by damage to right inferior frontal gyrus in humans”, *Nature neuroscience*, vol. 6, n.º 2, pp. 115–116, 2003.
- [128] R. N. A. Henson, T. Shallice e R. J. Dolan, “Right prefrontal cortex and episodic memory retrieval: a functional MRI test of the monitoring hypothesis”, *Brain*, vol. 122, n.º 7, pp. 1367–1381, 1999.
- [129] D. Bor, J. Duncan, R. J. Wiseman e A. M. Owen, “Encoding strategies dissociate prefrontal activity from working memory demand”, *Neuron*, vol. 37, n.º 2, pp. 361–367, 2003.

-
- [130] M. Wiener, P. Turkeltaub e H. B. Coslett, “The image of time: a voxel-wise meta-analysis”, *Neuroimage*, vol. 49, n.º 2, pp. 1728–1740, 2010.
 - [131] M. Desmurget e A. Sirigu, “A parietal-premotor network for movement intention and motor awareness”, *Trends in cognitive sciences*, vol. 13, n.º 10, pp. 411–419, 2009.
 - [132] H. Garavan, T. J. Ross e E. A. Stein, “Right hemispheric dominance of inhibitory control: an event-related functional MRI study”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 96, n.º 14, pp. 8301–8306, 1999.
 - [133] J. D. Herrington, W. Heller, A. Mohanty, A. S. Engels, M. T. Banich, A. G. Webb e G. A. Miller, “Localization of asymmetric brain function in emotion and depression”, *Psychophysiology*, vol. 47, n.º 3, pp. 442–454, 2010.
 - [134] L. Q. Uddin, M. Iacoboni, C. Lange e J. P. Keenan, “The self and social cognition: the role of cortical midline structures and mirror neurons”, *Trends in cognitive sciences*, vol. 11, n.º 4, pp. 153–157, 2007.
 - [135] A. Mitra, A. Z. Snyder, C. D. Hacker e M. E. Raichle, “Lag structure in resting-state fMRI”, *Journal of neurophysiology*, vol. 111, n.º 11, pp. 2374–2391, 2014.
 - [136] R. Garg, G. A. Cecchi e A. R. Rao, “NeuroImage Full-brain auto-regressive modeling (FARM) using fMRI”, *NeuroImage*, vol. 58, n.º 2, pp. 416–441, 2011.
 - [137] G. Deshpande, P. Santhanam e X. Hu, “Instantaneous and causal connectivity in resting state brain networks derived from functional MRI data”, *Neuroimage*, vol. 54, n.º 2, pp. 1043–1052, 2011.
 - [138] D. Sridharan, D. J. Levitin e V. Menon, “A critical role for the right fronto-insular cortex in switching between central-executive and default-mode networks”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 105, n.º 34, pp. 12 569–12 574, 2008.
 - [139] J. K. Ruzicidlo, P. L. Roseman, P. J. Laurienti e D. Dagenbach, “Stability of Whole Brain and Regional Network Topology within and between Resting and Cognitive States”, *PLoS ONE*, vol. 8, n.º 8, pp. 1–8, 2013.
 - [140] M. N. Moussa, C. D. Vechlekar, J. H. Burdette, M. R. Steen, C. E. Hugenschmidt e P. J. Laurienti, “Changes in Cognitive State Alter Human Functional Brain Networks”, *Frontiers in Human Neuroscience*, vol. 5, n.º 83, pp. 1–15, 2011.
 - [141] M. P. van den Heuvel, C. J. Stam, R. S. Kahn e H. E. H. Pol, “Efficiency of functional brain networks and intellectual performance”, *Journal of Neuroscience*, vol. 29, n.º 23, pp. 7619–7624, 2009.
 - [142] A. J. M. Verberne e N. C. Owens, “Cortical modulation of the cardiovascular system”, *Progress in neurobiology*, vol. 54, n.º 2, pp. 149–168, 1998.

- [143] H. D. Critchley, D. R. Corfield, M. P. Chandler, C. J. Mathias e R. J. Dolan, “Cerebral correlates of autonomic cardiovascular arousal: a functional neuroimaging investigation in humans”, *The Journal of Physiology*, vol. 523, n.º 1, pp. 259–270, 2000.
- [144] H. D. Critchley e N. A. Harrison, “Visceral Influences on Brain and Behavior”, *Neuron*, vol. 77, n.º 4, pp. 624–638, 2013.
- [145] C. Yu, Y. Zhou, Y. Liu, T. Jiang, H. Dong, Y. Zhang e M. Walter, “Functional segregation of the human cingulate cortex is confirmed by functional connectivity based neuroanatomical parcellation”, *NeuroImage*, vol. 54, n.º 4, pp. 2571–2581, 2011.
- [146] D. M. Torta e F. Cauda, “Different functions in the cingulate cortex, a meta-analytic connectivity modeling study”, *Neuroimage*, vol. 56, n.º 4, pp. 2157–2172, 2011.
- [147] G. Pfurtscheller, A. Schwerdtfeger, C. Brunner, C. Aigner, D. Fink, J. Brito, M. P. Carmo e A. Andrade, “Distinction between Neural and Vascular BOLD Oscillations and Intertwined Heart Rate Oscillations at 0 . 1 Hz in the Resting State and during Movement”, *PloS one*, vol. 12, n.º 1, pp. 1–14, 2017.
- [148] R. D. Lane, E. M. Reiman, G. L. Ahern e J. F. Thayer, “21. Activity in medial prefrontal cortex correlates with vagal component of heart rate variability during emotion”, *Brain and Cognition*, vol. 47, n.º 1-2, pp. 97–100, 2001.
- [149] G. Pfurtscheller, D. S. Klobassa, G. Bauernfeind e C. Neuper, “Cardiovascular responses after brisk finger movement and their dependency on the “eigenfrequency” of the baroreflex loop”, *Neuroscience Letters*, vol. 490, n.º 1, pp. 31–35, 2011.
- [150] H. E. Wang, C. G. Bénar, P. P. Quilichini, K. J. Friston, V. K. Jirsa e C. Bernard, “A systematic framework for functional connectivity measures”, *Frontiers in neuroscience*, vol. 8, n.º 405, pp. 1–22, 2014.

RESULTADOS DO GRAU DO NÓ - MAGNITUDE

Este anexo contém todos os resultados do grau do nó obtidos com a medida de magnitude da coerência de Wavelet em três bandas de frequência distintas: 0.01-0.027 Hz; 0.027-0.073 Hz; e 0.07-0.13 Hz.

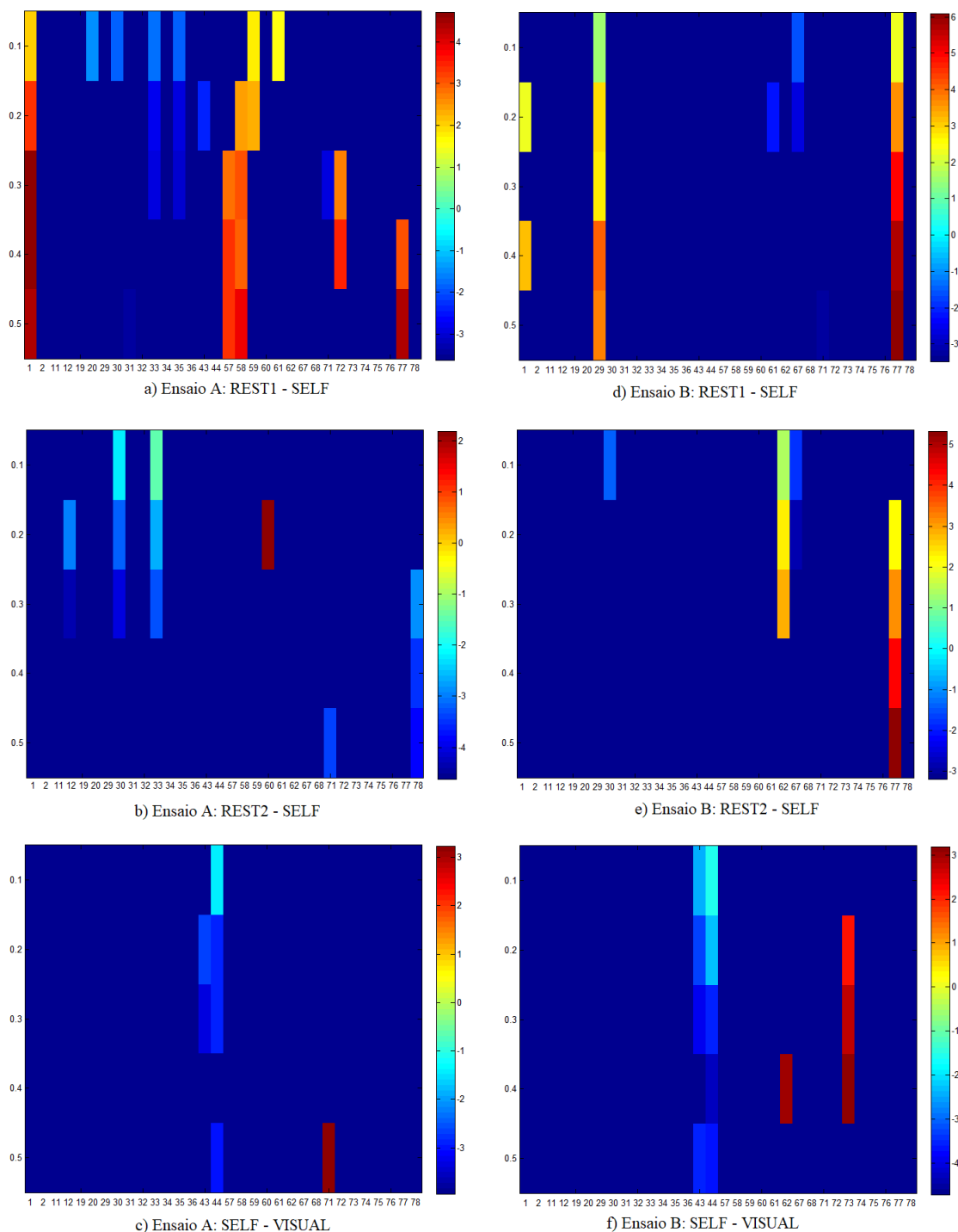


Figura I.1: Resultados das matrizes de magnitude referentes à banda de frequência de 0.01 a 0.027 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens do lado esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respectivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo.

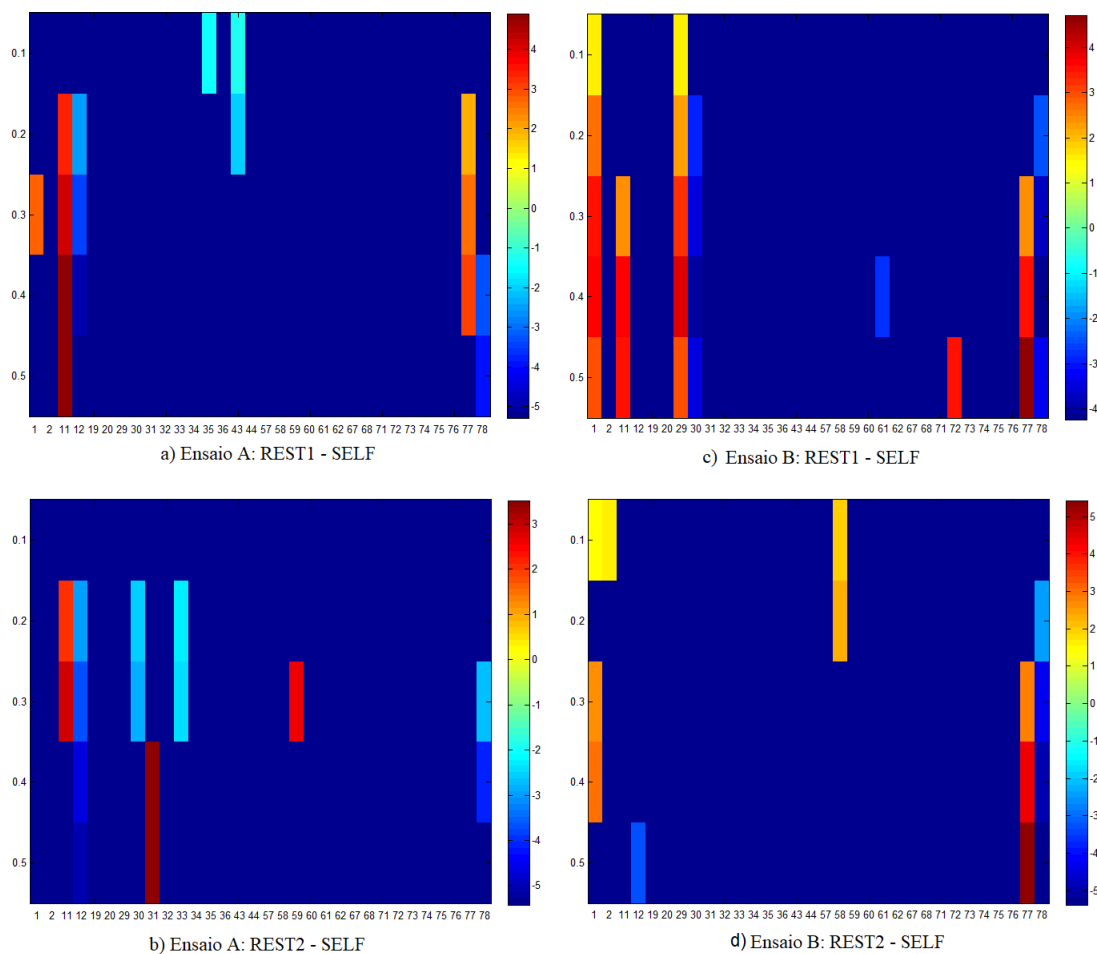


Figura I.2: Matrizes de magnitude referentes à banda de frequência de 0.027 a 0.073 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens do lado esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo.

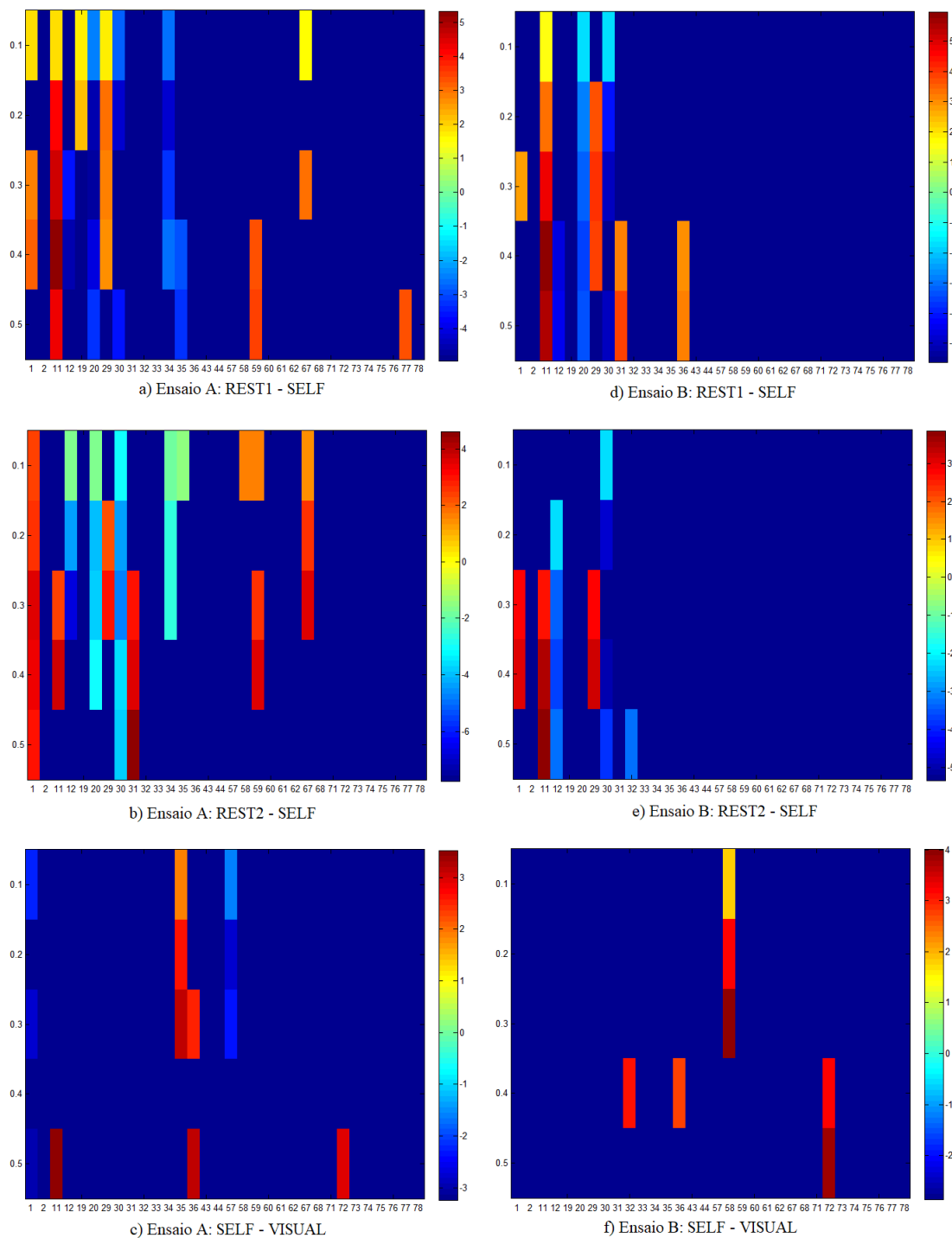


Figura I.3: Matrizes de magnitude referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens do lado esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respectivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo.

ANEXO III

RESULTADOS DO GRAU DO NÓ - *Phase-Locking*

Este anexo contém os resultados do grau do nó obtidos com a medida de *phase-locking* da coerência de Wavelet, em três bandas de frequência distintas: 0.01-0.027 Hz; 0.027-0.073 Hz; e 0.07-0.13 Hz.

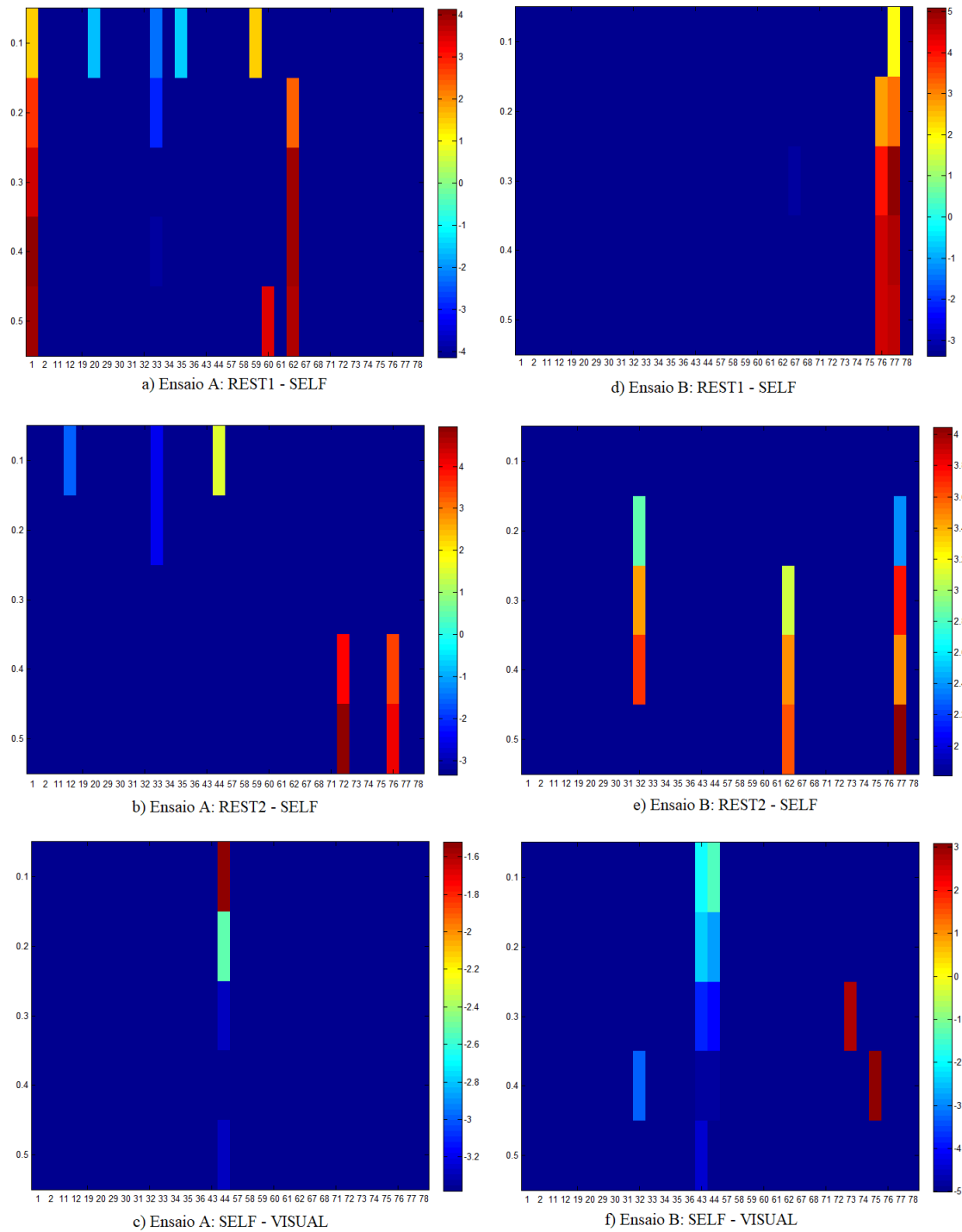


Figura II.1: Resultados das matrizes de *phase-locking* referentes à banda de frequência de 0.01 a 0.027 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo.

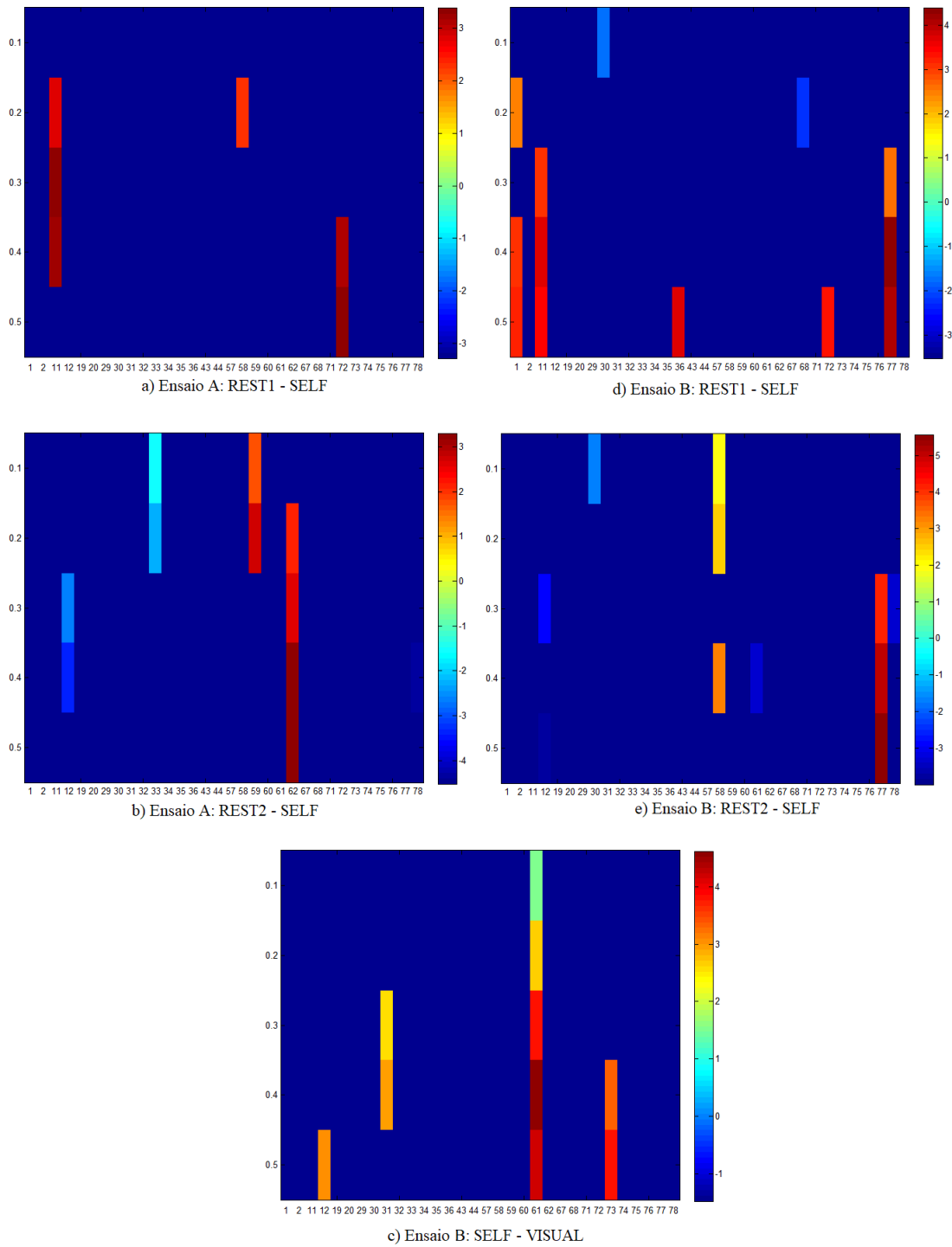


Figura II.2: Resultados das matrizes de *phase-locking* referentes à banda de frequência de 0.027 a 0.073 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo.

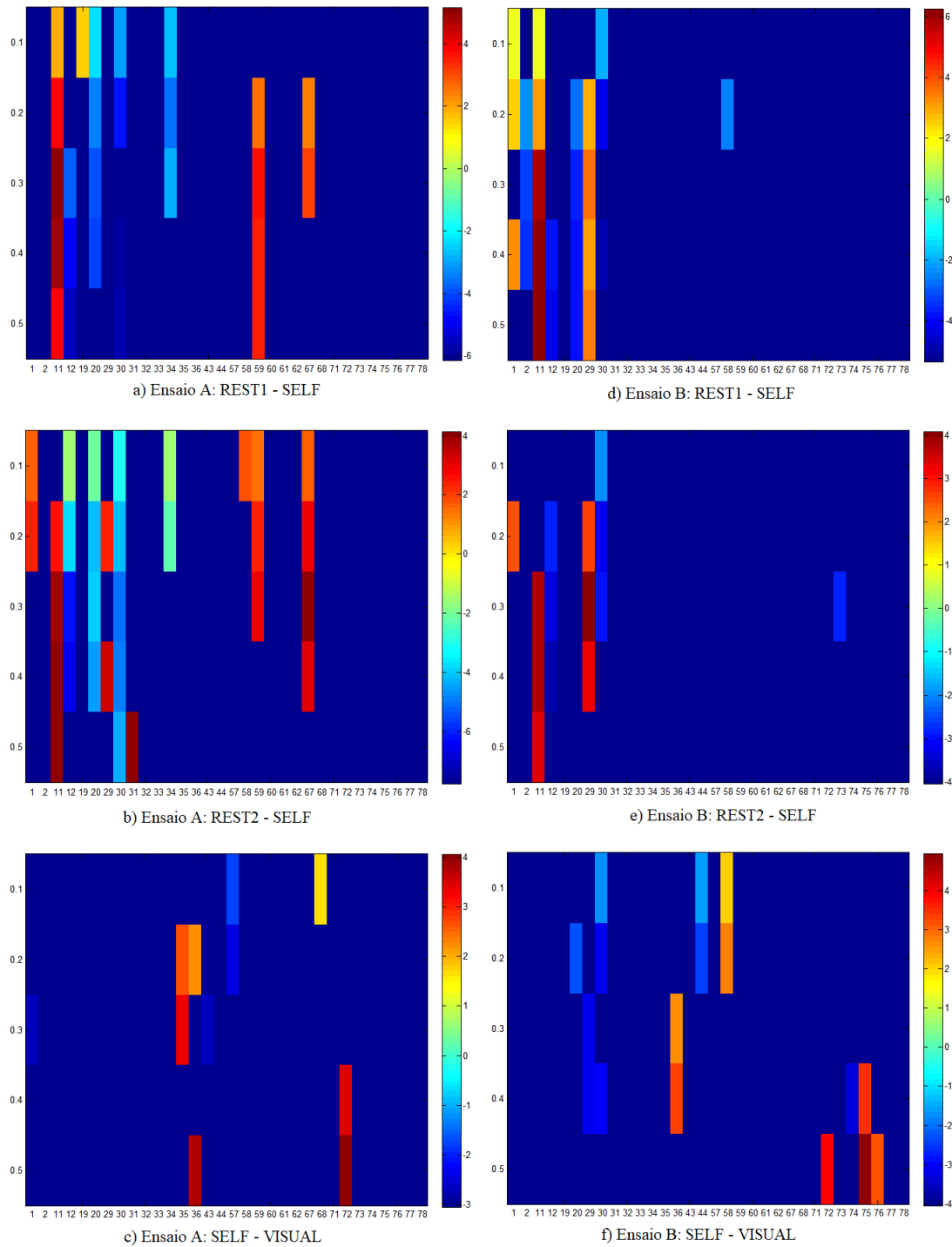


Figura II.3: Resultados das matrizes de *phase-locking* referentes à banda de frequência de 0.07 a 0.13 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respectivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo.

ANEXO III

RESULTADOS DO GRAU DO NÓ - FASE

Este anexo contém os resultados do grau do nó obtidos com a medida de fase da coerência de Wavelet, em duas bandas de frequência distintas: 0.01-0.027 Hz e 0.027-0.073 Hz.

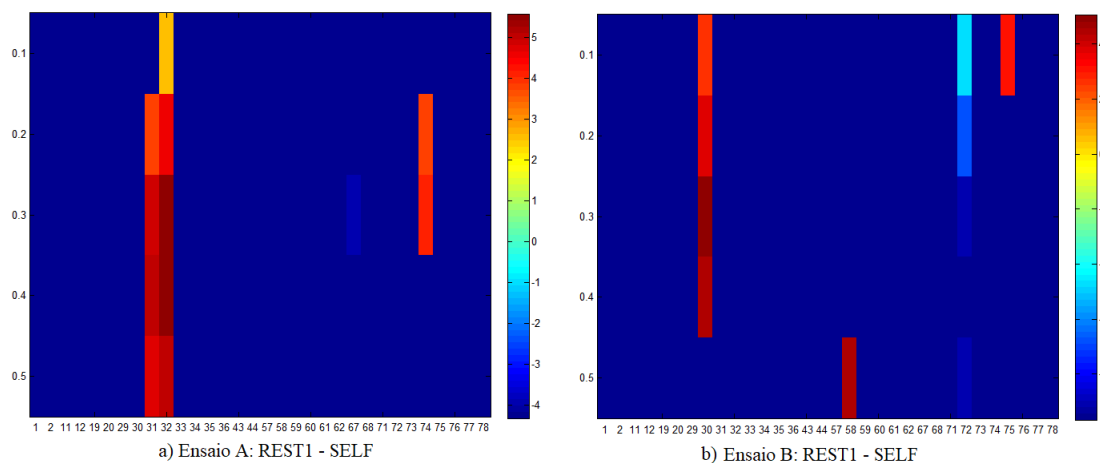


Figura III.1: Resultados das matrizes de fase referentes à banda de frequência de 0.01 a 0.027 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respectivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo.

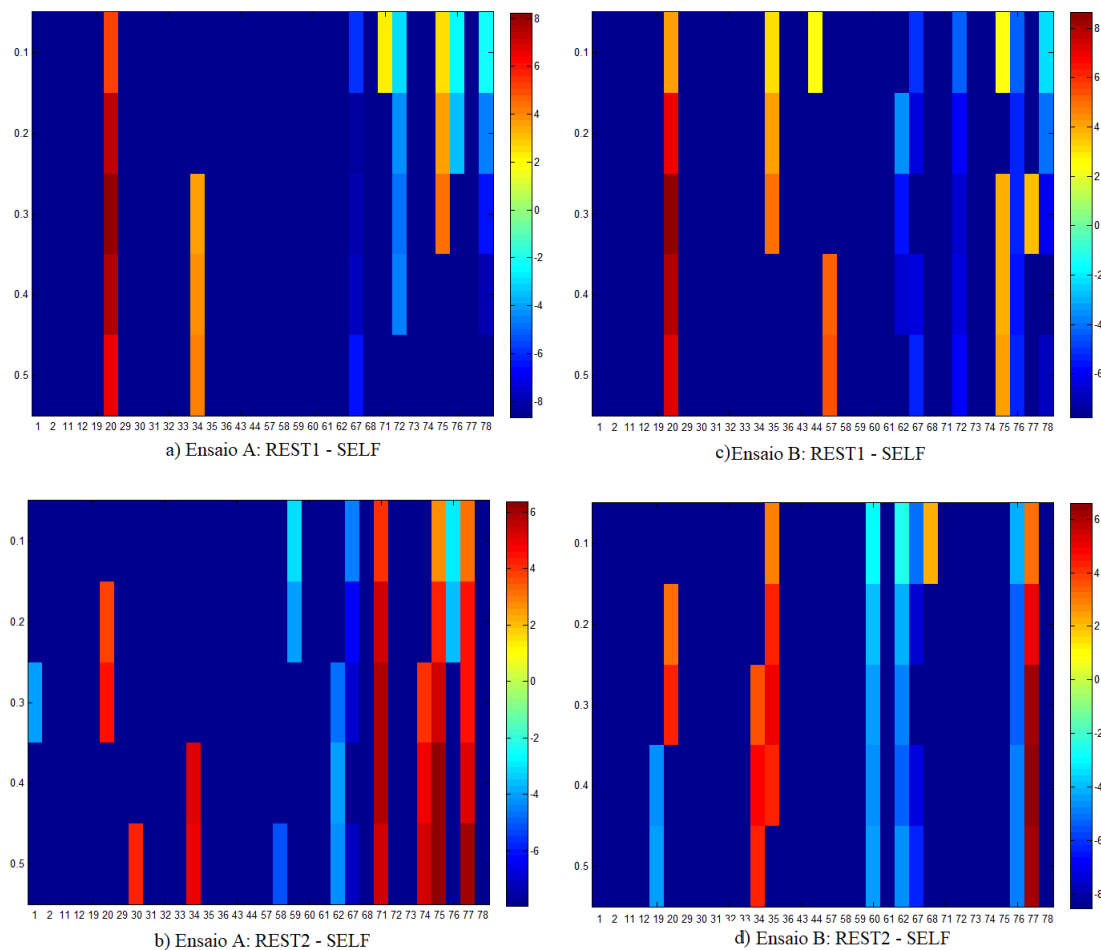


Figura III.2: Resultados das matrizes de fase referentes à banda de frequência de 0.027 a 0.073 Hz, considerando a medida de grau do nó. As imagens dos lados esquerdo e direito dizem respeito aos ensaios A e B, respetivamente, sendo que por baixo de cada uma encontra-se a fórmula da diferença correspondente à tarefa em estudo.